

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
UFVJM**

LETÍCIA FIGUEIREDO CUNHA

**PLANTAS DO CERRADO BRASILEIRO: TRIAGEM FITOQUÍMICA E DE
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE ESPÉCIES NATIVAS DO MUNICÍPIO DE
DIAMANTINA, REGIÃO DO VALE DO JEQUITINHONHA, MINAS GERAIS.**

DIAMANTINA – MG

2016

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

C914p

Cunha, Leticia Figueiredo

Plantas do cerrado brasileiro: triagem fitoquímica e de atividades biológicas de espécies nativas do município de Diamantina, região Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais / Leticia Figueiredo Cunha. – Diamantina, 2016.

317 p. : il.

Orientador: Helen Rodrigues Martins

Coorientador: Cristiane Fernanda Fuzer Graef

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

1. Plantas medicinais. 2. Atividades biológicas. 3. Fitoquímica preliminar. I. Título. II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 615.321

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Letícia Figueiredo Cunha

**PLANTAS DO CERRADO BRASILEIRO: TRIAGEM FITOQUÍMICA E DE
ATIVIDADE BIOLÓGICAS DE ESPÉCIES NATIVAS DO MUNICÍPIO DE
DIAMANTINA, REGIÃO DO VALE DO JEQUITINHONHA, MINAS GERAIS.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos
Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das
exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, área de concentração em Ciências
Farmacêuticas para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Helen Rodrigues Martins

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiane Fernanda Fuzer Grael

DIAMANTINA – MG

2016

Letícia Figueiredo Cunha

**PLANTAS DO CERRADO BRASILEIRO: TRIAGEM FITOQUÍMICA E DE
ATIVIDADE BIOLÓGICAS DE ESPÉCIES NATIVAS DO MUNICÍPIO DE
DIAMANTINA, REGIÃO DO VALE DO JEQUITINHONHA, MINAS GERAIS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Ciências Farmacêuticas *Stricto Sensu* da
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e
Mucuri – UFVJM, como pré-requisito para obtenção do
grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Helen Rodrigues Martins

Data de aprovação: ____/____/____

Prof. Dr. Eduardo de Jesus Oliveira

Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde - UFVJM

Prof.^a Dr.^a. Bethânia Alves de Avelar Freitas

Instituto de Ciência e Tecnologia (ICT) – UFVJM

Prof^ª. Dr^ª. Helen Rodrigues Martins

Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde - UFVJM

DIAMANTINA – MG

Dedico este trabalho aos meus pais, Hernando e Helena, por todo amor, carinho, apoio, paciência e por estarem sempre presentes.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao meu bondoso DEUS por ser a minha fortaleza, permitindo que eu chegasse até aqui, por ter me sustentado todas as vezes que pensei em desistir e por ter me capacitado diante de todas as dificuldades.

Agradeço aos meus pais Hernando e Helena, pelo amor, carinho, paciência, apoio, compreensão e pela presença ao longo desta trajetória.

Ao meu irmão Fernando pelo companheirismo e apoio.

À minha família, que mesmo distante se fez presente, através de orações, ligações e mensagens de incentivo, apoio e amor.

Ao meu namorado Klaus, por todo incentivo, amor, paciência, companheirismo e por sempre estar ao meu lado.

À minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Helen Rodrigues Martins, pela disponibilidade em me orientar, por todos os ensinamentos transmitidos, pela ajuda na realização deste trabalho e por ter contribuído no meu crescimento profissional e pessoal.

À Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Fernanda Fuzer Graef, pela co-orientação, por todo apoio, ajuda e por ter contribuído no meu crescimento profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. Fernando Armini Ruela pela boa vontade em ajudar e por ter fornecido alguns dos extratos para a realização deste trabalho.

À todos os amigos do laboratório de Parasitologia e Labimuno, em especial o Fabrício e Kelly pela paciência e boa vontade em me ensinar. Agradeço também, de maneira especial, a Raquel por toda a ajuda na realização dos experimentos, pela amizade e por ter tornado a rotina do laboratório mais divertida.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, ao departamento de Farmácia e a todos os meus professores.

Enfim, a todos que contribuíram e torceram para esta conquista, Muito Obrigada!

“Algo só é impossível até que alguém
duvide e prove o contrário.”

(Albert Einstein)

RESUMO

As plantas, por serem fonte de substâncias biologicamente ativas, são utilizadas com a finalidade terapêutica desde o início da civilização humana. O Brasil, por sua vez, é detentor de uma vasta diversidade biológica e possui uma grande quantidade de espécies vegetais com potencial medicinal. Dentre os diversos biomas do território brasileiro, o Cerrado representa o segundo maior, registrando-se muitas espécies medicinais. Apesar de sua rica biodiversidade muitas plantas endêmicas deste bioma foram pouco estudadas do ponto de vista químico e biológico. Consequentemente, é necessário maior investimento em pesquisas com plantas medicinais para tratamento de doenças, principalmente, as crônicas degenerativas e parasitárias, como Doença de Chagas, Leishmanioses, Câncer e as infecções causadas por bactérias e fungos, cujo o tratamento apresenta importantes limitações. Assim, o objetivo deste estudo foi realizar a triagem fitoquímica e de atividades biológicas de extratos etanólicos de 12 espécies de plantas oriundas do Cerrado, coletadas no município de Diamantina, Vale do Jequitinhonha/MG. Para a triagem fitoquímica preliminar destes extratos foram realizadas reações cromogênicas, de precipitações e análises em cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC). A citotoxicidade para células normais de mamíferos foi avaliada em fibroblastos de camundongos (L929). A linhagem celular de câncer de mama MDA-MB-231 foi a utilizada para a avaliação da atividade antitumoral dos extratos. A avaliação da atividade antitripanossomatídeo foi realizada sobre formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanossoma cruzi* e, sobre as formas promastigotas das cepas BH46 de *Leishmania (leishmania) infantum* e cepa M2269 de *Leishmania (leishmania) amazonensis*. Para a avaliação destas atividades foi empregada a técnica colorimétrica de MTT. A avaliação das atividades antibacteriana e antifúngica foi realizada por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), empregando a técnica colorimétrica da Resazurina. As espécies de bactérias utilizadas foram *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Na atividade antifúngica foram utilizadas quatro espécies de leveduras (*Candida albicans*, *Candida famata*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*) e duas espécies de fungos filamentosos (*Aspergillus niger* e *Penicillium expansum*). Dos 13 extratos avaliados com relação a citotoxicidade sobre fibroblastos de camundongos da linhagem L929, todos apresentaram algum grau de citotoxicidade. Alguns destes extratos apresentaram elevada toxicidade sobre esta linhagem celular, sendo que o extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus* foi o mais tóxico. Na avaliação da atividade antitumoral, com exceção do extrato etanólico das folhas de *P. rigida*, todos os outros extratos

avaliados apresentaram atividade. Destes o mais promissor também foi o extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus*. Na avaliação da atividade tripanocida sobre formas epimastigotas da cepa Colombiana de *T. cruzi*, nove extratos foram ativos contra este parasito. Destes os mais promissores foram os extratos das folhas de *A. aculeata* e das folhas de *E. erythropappus*. Na avaliação da atividade leishmanicida para a cepa M2269 os extratos etanólicos das folhas de *E. erythropappus* e das folhas de *B. oxyclada* apresentaram como os mais promissores e, para a cepa BH46 o extrato etanólico de toda espécie *T. catartica* foi o mais promissor, seguido também do extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus*. Na avaliação da atividade antibacteriana somente os extratos etanólicos das folhas de *B. oxyclada*, de *P. tomentosa* e *S. rugosa* foram ativos e, as únicas bactérias sensíveis foram *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Destes o extrato etanólico de *P. tomentosa* inibiu um maior número de bactérias com ação bactericida. Os fungos filamentosos, *A. niger* e *P. expansum*, se mostraram resistentes a todos os extratos avaliados e *C. krusei* foi a levedura mais sensível. Os extratos das folhas de *B. oxyclada* e das folhas de *P. tomentosa* foram os extratos que inibiram o maior número de espécies fúngicas com os menores valores de CIM. Através destes resultados, sugere-se que os extratos etanólicos das folhas de *Eremanthus erythropappus*, de *Peixotoa tomentosa* e de *Banisteriopsis oxyclada* apresentaram o maior número de atividades biológicas e com os melhores resultados, o que torna estas espécies as mais promissoras como fontes potenciais de moléculas bioativas para o tratamento de Câncer, Doença de Chagas, Leishmanioses e infecções bacterianas e fúngicas, necessitando de mais estudos a fim de identificar as substâncias responsáveis por tais atividades e pela citotoxicidade e, validá-las através de outros modelos *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chave: Plantas medicinais; atividade tripanocida, atividade leishmanicida, atividade antitumoral, atividade antibacteriana, atividade antifúngica, fitoquímica.

ABSTRACT

Plants are a potential source of biologically active substances and they are used for therapeutic purposes since the beginning of human civilization. Brazil, in turn, holds a vast biological diversity and has a lot of plant species with medicinal potential. Among the various biomes of Brazil, the Cerrado is the second largest, registering many medicinal species. Consequently, it is necessary to invest more in research of medicinal plants as possible new treatments, especially for the degenerative and chronic disease such as Chagas, Leishmaniasis, cancer and infections caused by bacteria and fungi, whereof treatment has big limitations. The objective of this study was the phytochemical screening and biological activities studies of ethanolic extracts of 12 plants species from the Cerrado, collected in the municipality of Diamantina, Vale do Jequitinhonha / MG. For the preliminary phytochemical screening were made chromogenic and precipitation reactions and analysis in thin-layer chromatography. Cytotoxicity for normal mammalian cells was evaluated in mouse fibroblasts (L929) and the cell line of breast cancer MDA-MB-231 was used to analyze the antitumor activity of the extracts. The evaluation of antitrypanosomal activity was performed using epimastigotes of Colombian *Trypanosoma cruzi* strain and promastigotes of BH46 *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* strain and M2269 *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* strain. The analysis of these activities were based at the colorimetric MTT technique. The evaluation of antibacterial and antifungal activities was performed by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) employing the colorimetric Resazurin technique. Species of bacteria used were *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. In the antifungal activity were used four species of yeast (*Candida albicans*, *Candida famata*, *Candida krusei* and *Candida tropicalis*) and two species of filamentous fungi (*Aspergillus niger* and *Penicillium expansum*). Of the 13 extracts evaluated for cytotoxicity using the L929 strain mouse fibroblasts, all they had some cytotoxicity level. Some of these extracts then showed a high toxicity in this assay cell line, wherein the ethanolic extract of *E. erythropappus* leaves was the most toxic. In the evaluation of antitumor activity all extracts showed activity, exception for the extract of *P. rigida* leaves. Among these the most promising was either the ethanolic extract of the leaves of *E. erythropappus*. Evaluation of trypanocidal activity using Colombian strain of *T. cruzi* epimastigotes, present active for nine extracts against this parasite, been the *A. aculeata* and leaves *E. erythropappus* leaf extract the most promising. Leishmanicidal activity for the M2269 strain of *E. erythropappus* *B. oxyclada* leaf extract presented as the most promising

and, for the BH46 strain the *T. catahartica* role plant extract shows the best results, followed by the *E. erythropappus* leaf extract. In the antibacterial activity assay only the *B. oxyclada*, *P. tomentosa* and *S. rugosa* leaf extracts were active, and the only for *P. aeruginosa* and *S. aureus*. Among these the *P. tomentosa* extract inhibited a greater number of bacteria with bactericidal action. Filamentous fungus *A. niger* and *P. expansum* were resistant to all extracts evaluated and *C. krusei* was the most sensitive yeast. *P. tomentosa* and *B. oxyclada* leaf extracts inhibited more yeast species but with the lowest MIC values. Due these results, it is suggested that the *E. erythropappus* of *P. tomentosa* and *B. oxyclada* leaf ethanolic extracts showed the greatest of biological activities, making these the most promising species as potential sources of bioactive molecules for the treatment of cancer, Chagas disease, Leishmaniasis and bacterial and fungal infections, yet requiring further studies to identify the substances responsible for such activities and cytotoxicity and validate them through other models in vitro and in vivo.

Keywords: medicinal Plants; trypanocidal activity, leishmanicidal activity, antitumor activity, antibacterial activity, antifungal activity, phytochemical.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Imagens das exsiccatas das plantas utilizadas nos experimentos.....	64
Figura 2: Representação estrutural da molécula de atropina, um alcalóide verdadeiro. ChemDraw Ultra (2004).....	68
Figura 3: Representação da estrutura química de uma antraquinona. ChemDraw Ultra (2004).	70
Figura 4: Representação da estrutura básica da Cumarina. ChemDraw Ultra (2004).....	70
Figura 5: Representação da estrutura dos terpenóides e esteróides. ChemDraw Ultra (2004).	72
Figura 6: Representação de uma estrutura básica de flavonóide. ChemDraw Ultra (2004)..	74
Figura 7: Estrutura da saponina, glicirrizina. ChemDraw Ultra (2004).....	76
Figura 8: Representação da estrutura química dos taninos. ChemDraw Ultra (2004).....	77
Figura 9: Reação de oxi-redução do 3-[4,5-dimetiltiazol-2il]-2,5- difeniltetrazólio (MTT) em formazano após a conversão pela enzima succinato desidrogenase. ChemDraw Ultra (2004).....	81
Figura 10: Reação de oxi-redução da resazurina em resofurina após conversão pelas enzimas do sistema de transporte do metabolismo celular. ChemDraw Ultra (2004).....	87
Figura 11: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de <i>Eremanthus</i> <i>erythropappus</i> sobre L929.....	111
Figura 12: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas e raiz de <i>Cissampelos ovalifolia</i> sobre L929.....	112
Figura 13: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de <i>Campomanesia</i> <i>adamantium</i> sobre L929.....	113
Figura 14: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de <i>Acosmium</i> <i>dasycarpum</i> sobre L929.....	115
Figura 15: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de <i>Banisteriopsis</i> <i>oxyclada</i> sobre L929.....	116
Figura 16: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de toda espécie <i>Trimezia cathartica</i> sobre L929.....	118
Figura 17: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de <i>Acrocomia aculeata</i> sobre L929.....	119
Figura 18: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas de <i>Eryngium</i> <i>horridum</i> sobre L929.....	121

Figura 19: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de <i>Palicourea rigida</i> sobre L929.....	122
Figura 20: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de <i>Peixotoa tomentosa</i> sobre L929.....	124
Figura 21: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de <i>Senna rugosa</i> sobre L929.....	125
Figura 22: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de <i>Alternanthera</i> Forssk. sobre L929.....	126
Figura 23: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de <i>Senna rugosa</i> sobre MDA-MB-231.....	130
Figura 24: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de <i>Eremanthus erythropappus</i> sobre MDA-MB-231.....	132
Figura 25: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de <i>Acrocomia aculeata</i> sobre MDA-MB-231.....	134
Figura 26: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das partes aéreas e raiz de <i>Cissampelos ovalifolia</i> sobre MDA-MB-231.....	136
Figura 27: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das partes aéreas de <i>Eryngium horridum</i> sobre MDA-MB-231.....	137
Figura 28: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de <i>Acosmium dasycarpum</i> sobre MDA-MB-231.....	139
Figura 29: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico de toda planta <i>Trimezia cathartica</i> sobre MDA-MB-231.....	141
Figura 30: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de <i>Campomanesia adamantium</i> sobre MDA-MB-231.....	142
Figura 31: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de <i>Peixotoa tomentosa</i> sobre MDA-MB-231.....	144
Figura 32: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de <i>Banisteriopsis oxyclada</i> sobre MDA-MB-231.....	146
Figura 33: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de <i>Alternanthera sp.</i> Forssk sobre MDA-MB-231.....	147
Figura 34: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de <i>Palicourea rigida</i> sobre MDA-MB-231.....	148
Figura 35: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas <i>Acrocomia aculeata</i> sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i>	151

Figura 36: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de <i>Eremanthus erythropappus</i> , sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	153
Figura 37: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de <i>Peixotoa tomentosa</i> , sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	155
Figura 38: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das partes aéreas e raiz de <i>Cissampelos ovalifolia</i> , sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> , respectivamente.	156
Figura 39: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das partes aéreas de <i>Eryngium horridum</i> , sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	157
Figura 40: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas <i>Banisteriopsis oxyclada</i> sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	159
Figura 41: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas <i>Campomanesia adamantium</i> sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	160
Figura 42: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico de toda a planta <i>Trimezia cathartica</i> , sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	161
Figura 43: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de <i>Palicourea rigida</i> , sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	163
Figura 44: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas <i>Alternanthera sp.</i> Forssk sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	164
Figura 45: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas <i>Acosmium dasycarpum</i> sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	165
Figura 46: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de <i>Senna rugosa</i> , sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	166
Figura 47: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de <i>Acosmium dasycarpum</i> , sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.	170
Figura 48: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de <i>Acrocomia aculeata</i> , sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.	172
Figura 49: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de <i>Alternanthera</i> Forssk, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.	174

Figura 50: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de <i>Banisteriopsis oxyclada</i> , sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.....	175
Figura 51: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de <i>Campomanesia adamantium</i> , sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.....	177
Figura 52: Avaliação da atividade leishmanicida dos extrato etanólicos das partes aéreas e da raiz de <i>Cissampelos ovalifolia</i> , sobre as formas promastigotas ca cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.....	179
Figura 53: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de <i>Eremanthus erythropappus</i> , sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.....	181
Figura 54: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das partes aéreas de <i>Eryngium horridum</i> , sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.....	183
Figura 55: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de <i>Palicourea rigida</i> , sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.....	185
Figura 56: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas <i>Peixotoa tomentosa</i> , sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.....	187
Figura 57: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de <i>Senna rugosa</i> , sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.....	188
Figura 58: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de <i>Trimezia cathartica</i> , sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de <i>Leishmania amazonensis</i> e da cepa BH46 de <i>Leishmania infantum</i> , respectivamente.....	189
Figura 59: Avaliação da atividade antibacteriana sobre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> utilizando a técnica de diluição em microplaca com determinação da CIM.....	191

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Espécies de bactérias utilizadas na avaliação da atividade antibacteriana, sua classificação, doenças ocasionadas e resistência aos antibacterianos.....	50
Quadro 2: Espécies de fungos utilizadas na avaliação da atividade antifúngica, sua classificação, doenças ocasionadas e resistência aos antifúngicos.....	55
Quadro 3: Dados referentes à coleta, identificação, depósito das exsiccatas, nome popular e uso popular das espécies vegetais.....	58
Quadro 4: Espécies, suas respectivas famílias e partes utilizadas no preparo dos extratos.....	65
Quadro 5: Relação dos testes aplicados para a identificação de prováveis classes químicas nas plantas avaliadas.....	67
Quadro 6: Reagentes gerais para a pesquisa de alcalóides, composição e cor do precipitado formado quando reagem com alcalóides.....	68

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Resultados referentes à pesquisa de alcalóides nos extratos das espécies vegetais, por meio de reações de precipitação com os Reagentes Gerais para Alcalóides.....	94
Tabela 2: Resultados referentes à pesquisa de antraquinonas nos extratos das espécies vegetais através da Reação de Borntrager Direta.....	97
Tabela 3: Resultados referentes à pesquisa de cumarinas nos extratos das espécies vegetais através da Cromatografia Comparativa em Camada Delgada com KOH e radiação UV, como agentes reveladores.....	98
Tabela 4: Resultados referentes à pesquisa de metabólitos de natureza terpênica (esteróides/triterpenos) nos extratos das espécies vegetais através da Reação de Liebermann-Burchard e de Salkowisk.....	100
Tabela 5: Resultados referentes à pesquisa de flavonóides nos extratos das espécies vegetais, por meio de Reação de Shinoda (Cianidina), Reação com Hidróxido Alcalino e Reação com Cloreto Férrico.....	102
Tabela 6: Resultados referentes à pesquisa de saponinas nos extratos das espécies vegetais através da observação da propriedade afrogênica.....	105
Tabela 7: Resultados referentes à pesquisa de taninos nos extratos das espécies vegetais, por meio de Reação de Shinoda (Cianidina), Reação com Gelatina, Reação com Acetato Neutro de Chumbo, Reação com Acetato Ácido de Chumbo e Reação com Cloreto Férrico.....	108
Tabela 8: Resultados da avaliação da citotoxicidade dos extratos etanólico das espécies vegetais sobre células L929.....	110
Tabela 9: Resultados da avaliação da atividade antitumoral, sobre células MDA-MB-231, dos extratos etanólico das espécies vegetais avaliadas.....	129
Tabela 10: Avaliação da atividade tripanocida dos extratos etanólicos das espécies vegetais sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de <i>Trypanossoma cruzi</i>	150

Tabela 11: Avaliação da atividade leishmanicida dos extratos etanólicos das espécies vegetais sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*.....168

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIACÕES

°GL: Grau °Gay Lussac

AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

ANOVA: Análise de variância

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC: American Type Culture Collection

ATCC: *American Type Culture Collection*

B.O.D.: Demanda Bioquímica de Oxigênio

BH46: Cepa de *Leishmania (leishmania) infantum*

BH46: *Leishmania (leishmania) infantum*

BHI: Brain Heart Infusion Broth

CC₅₀: Concentração citotóxica a 50%

CCDC: Cromatografia em camada delgada comparativa

CdCl₂: Cloreto de cádmio células/mL células por mililitro

Cepa Y: Cepa do protozoário *Trypanosoma cruzi II*

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CIPq-Saúde: Centro Integrado de Pós-Graduação e Pesquisa em Saúde

CL₅₀: Concentração letal média

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CNPq: Conselho Nacional de Pesquisa

DL₅₀: Dose letal média

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium

DMSO: Dimetilsulfóxido

EC₅₀: Metade do efeito máximo

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz

HDJF: Herbário Dendrológico Jeanine Felfili

HeLa: Adenocarcinoma do colo uterino humano

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

Iarc: *World Cancer Report 2014* da International Agency for Research on Cancer

IC₅₀: Concentração necessária para promover 50% de inibição da viabilidade

INCA: Instituto Nacional do Câncer

IS: Índice de seletividade

IS: Índice de Seletividade

L929: Fibroblastos de mamíferos clone 929 da linhagem L de camundongos

LC: Leishmaniose Cutânea

LCD: Leishmaniose cutânea difusa

LEFB: Lista de Espécies da Flora do Brasil

LIMP: Laboratório de Imunoparasitologia

LIT: Liver Infuse Tryptose

LIT: *Liver Infusion Tryptose*

LLA: Leucemia linfoblástica aguda

LMC: Leishmaniose mucocutânea

LPCM: Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular

LT: Leishmaniose Tegumentar

LTA: Leishmaniose Tegumentar Americana

LV: Leishmaniose Visceral

M2269: *Leishmania (leishmania) amazonensis*

MDA-MB-231: Células de adenocarcinoma de mama

MMA: Ministério do Meio Ambiente

MTT: Brometo de 3-(4,3-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio

NCTC: *National Collection of Type Cultures*

NEPRONAT: Laboratório do Núcleo de Estudos de Produtos Naturais

OMS: Organização Mundial da Saúde

PAHO: Pan American Health Organization

PBS: Phosphate Buffered Saline

PGG: 1,2,3,4,6-penta-O-galactil- β -D-glucose

pH: Potencial hidrogeniônico

ppm: parte por milhão

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

SBFgnosia: Sociedade Brasileira de Farmacognosia

SDS: Dodecil Sulfato de Sódio

SFB: Soro Fetal Bovino

U.V: Ultravioleta

UFC/mL: Unidade formadora de colônias por mililitro

UFC: Unidade Formadora de Colônia

UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto

UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto

UFVJM: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

YPD: *Yeast extract – Peptone – Dextrose*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	30
2. OBJETIVOS.....	33
2.1 Objetivo Geral.....	33
2.2 Objetivos Específicos.....	33
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	34
3.1 Plantas medicinais no tratamento de infecções humanas.....	34
3.2 Cerrado Brasileiro: Biodiversidade, importância e uso medicinal.....	37
3.3 Doenças Humanas: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêuticas.....	39
3.3.1 Câncer: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêuticas.....	39
3.3.2 Doenças de Chagas: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêutica.....	42
3.3.3 Leishmanioses: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêuticas.....	44
3.3.4 Infecções Bacterianas: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêuticas.....	48
3.3.5 Infecções Fúngicas: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêuticas.....	53
4 METODOLOGIA.....	57
4.1 Material vegetal.....	57
4.1.1 Coleta e identificação taxonômica.....	57
4.1.2 Preparo dos extratos.....	65
4.2 Análise Fitoquímica Preliminar.....	66
4.2.1 Teste para alcalóides.....	67
4.2.2 Teste para Antraquinonas.....	69
4.2.3 Teste para Cumarinas.....	70
4.2.4 Testes para metabólitos de natureza terpênica (Esteróides e Triterpenos).....	71

4.2.5 Teste para Flavonóides.....	73
4.2.6 Teste para Saponinas.....	76
4.2.7 Teste para Taninos.....	77
4.3 Ensaio biológicos.....	79
4.3.1 Avaliação de Citotoxicidade.....	79
4.3.1.1 Linhagem Celular e Manutenção.....	79
4.3.1.2 Ensaio para determinação da citotoxicidade dos extratos.....	80
4.3.2 Avaliação da Atividade Antitumoral.....	82
4.3.2.1 Linhagem Celular e Manutenção.....	82
4.3.2.2 Ensaio para determinação da atividade antitumoral dos extratos.....	83
4.3.3 Avaliação da Atividade Tripanocida.....	83
4.3.3.1 Cepa e Manutenção.....	84
4.3.3.2 Ensaio para determinação da atividade tripanocida dos extratos.....	85
4.3.4 Avaliação da Atividade Leishmanicida.....	85
4.3.4.1 Cepas e Manutenção.....	86
4.3.4.2 Ensaio para determinação da atividade leishmanicida dos extratos.....	86
4.3.5 Avaliação da Atividade Antibacteriana.....	86
4.3.5.1 Bactérias e Manutenção.....	87
4.3.5.2 Ensaio para determinação da atividade antibacteriana dos extratos.....	87
4.3.6 Avaliação da atividade antifúngica.....	88
4.3.6.1 Fungos: Filamentosos e Leveduras e Manutenção.....	89
4.3.6.2 Ensaio para determinação da atividade antifúngica dos extratos.....	90
4.4 Parâmetros para seleção de plantas com atividades biológicas promissoras: determinação e avaliação da IC ₅₀ , do Índice de Seletividade, da Eficácia e da Concentração Inibitória Mínima.....	90
4.5 Análises Estatísticas.....	91

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
5.1 Análise Fitoquímica Preliminar.....	92
5.1.1 Pesquisa de Alcalóides.....	92
5.1.2 Pesquisa de Antraquinonas.....	96
5.1.3 Pesquisa de Cumarinas.....	97
5.1.4 Pesquisa de metabólitos de natureza terpênica (Esteróides e Triterpenos).....	99
5.1.5 Pesquisa de Flavonóides.....	101
5.1.6 Pesquisa de Saponinas.....	104
5.1.7 Pesquisa de Taninos.....	106
5.2 Avaliação das atividades biológicas.....	109
5.2.1 Avaliação da citotoxicidade dos extratos.....	109
5.2.2 Avaliação da atividade antitumoral dos extratos.....	127
5.2.3 Avaliação da atividade tripanocida dos extratos.....	149
5.2.4 Avaliação da atividade leishmanicida dos extratos.....	167
5.2.5 Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos.....	189
5.2.6 Avaliação da atividade antifúngica dos extratos.....	199
6. CONCLUSÕES.....	208
7. PERSPECTIVAS.....	211
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	212
ANEXO A.....	294
ANEXO B.....	311

1.INTRODUÇÃO

As plantas, por constituírem fontes importantes de substâncias biologicamente ativas (WALL & WANI, 1996), são utilizadas com finalidade terapêutica desde o início da humanidade (ANDRADE *et al.*, 2007; MACIEL *et al.*, 2002; VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005; FIRMO *et al.*, 2011). Ainda hoje, elas são muito utilizadas para fins medicinais e representam, muitas vezes, a única alternativa terapêutica, principalmente em países em desenvolvimento (MACIEL *et al.*, 2002; AGRA *et al.*, 2008; AGRA *et al.*, 2007). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% das pessoas que vivem nestas áreas necessitam da medicina tradicional para atender às suas necessidades de saúde, sendo que o uso desta prática envolve cerca de 85% da utilização de plantas e de seus extratos (BRASIL, 2006).

A dificuldade de acesso aos serviços de saúde associada à facilidade de obtenção e o uso tradicional de plantas medicinais contribuem para a sua ampla utilização (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005; MACIEL *et al.*, 2002). Entretanto, muitas plantas usadas na medicina tradicional carecem de estudos que validem o seu uso na cultura popular (PINTO *et al.*, 2006; TUROLLA & NASCIMENTO, 2006) e comprovem sua eficácia e segurança (ARGENTA *et al.*, 2011). Há também escassez de estudos que investiguem outras atividades biológicas ou outras aplicações terapêuticas associadas a essas plantas medicinais.

Atualmente, existem muitos problemas relacionados à terapia de várias doenças humanas e grandes esforços têm sido feitos na tentativa de desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de enfermidades crônicas degenerativas ou parasitárias, sejam causadas por bactérias, por fungos ou pelos protozoários.

Os recursos econômicos destinados ao desenvolvimento de novos medicamentos para as doenças negligenciadas, como Doença de Chagas e Leishmanioses são escassos (ALONSO-PADILHA & RODRIGUEZ, 2014). Assim, considerando a ausência de vacinas, a toxicidade das quimioterapias existentes, os efeitos secundários do tratamento e o desenvolvimento de resistência dos parasitas aos medicamentos padrões torna-se extremamente necessário a descoberta de novos fármacos para o tratamento das mesmas. Neste contexto, deve-se considerar a validade e eficácia dos compostos derivados das plantas

(MACHADO *et al.*, 2010a; COURA & CASTRO, 2002; DIAS *et al.*, 2009; ALVIANO & ALVIANO *et al.*, 2009; CALIXTO, 2000; GIL *et al.*, 2008; NAKAMURA *et al.*, 2006).

Semelhantemente a estas infecções, aquelas de natureza fúngica e bacteriana apresentam também limitações relacionadas ao seu tratamento tornando necessária a busca de novos fármacos, que sejam mais seguros e eficazes (NAKAMURA *et al.*, 2013; SANTOS, 2004). Tais infecções têm recebido atenção especial em instituições de saúde, devido ao seu aumento progressivo, além das altas taxas de morbidade e mortalidade associada a doenças. O arsenal terapêutico para o tratamento das infecções fúngicas sistêmicas é ainda limitado e, apresenta problemas de baixa eficácia, resistência, toxicidade, segurança e reações adversas. Além disso, registra-se um aumento significativo na ocorrência das infecções fúngicas, principalmente as oportunistas invasivas, devido aos fatores como a imunossupressão e quimioterapia e o uso indiscriminado de antifúngicos de amplo espectro, tornando a terapêutica um aspecto preocupante (KUMAR & PANDEY, 2013; FENNER *et al.*, 2006; BERGOLDIS & GEORGIADIS, 2004).

Em relação às infecções bacterianas, o surgimento de bactérias resistentes aos antibióticos convencionais, em conjunto com a ocorrência de infecções oportunistas, associadas com a AIDS, a quimioterapia e a transplantes geram elevadas taxas de mortalidade e são responsáveis por grande parte das infecções hospitalares. Nesse sentido, faz-se necessário, também, a busca por novos compostos antimicrobianos que proporcionem um tratamento mais eficaz e limitem o agravamento do quadro clínico e sua disseminação (PENNA *et al.*, 2001; MOTA *et al.*, 2005; COSTA *et al.*, 2013a).

Outro grande problema está relacionado ao tratamento medicamentoso do câncer, doença crônica e degenerativa, considerada a segunda causa de morte no Brasil (MARQUES & PIERIN, 2008). A quimioterapia do câncer apresenta diversos problemas, como efeitos colaterais, que são apontados como os principais fatores responsáveis para o abandono do tratamento (ALMEIDA *et al.*, 2004). O desenvolvimento de resistência aos medicamentos quimioterápicos, ocasionando a recorrência do tumor (YAACOB *et al.*, 2010) e o alto custo dos medicamentos (SAKARKAR & DESHMUKH, 2011) são outras limitações relacionadas a terapêutica desta enfermidade. Estes fatores tem estimulado a formulação de novos medicamentos anticancerígenos que ofereçam tratamentos mais efetivos, eficazes e que impeçam o avanço da doença (BRANDÃO *et al.*, 2010).

Nesse contexto, fica evidente a necessidade de mecanismos eficientes para desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas, no intuito de contornar os problemas do tratamento atual destas doenças e, nota-se que o interesse mundial por produtos derivados da biodiversidade natural é crescente. A natureza fornece uma variedade de substâncias químicas complexas e a indústria farmacêutica tem as utilizado como princípios ativos e protótipos para desenvolvimento de moléculas bioativas no desenvolvimento de medicamentos (PIMENTEL *et al.*, 2015; YOUNG, 1999).

O Brasil, por sua vez, é detentor de uma vasta diversidade biológica e possui uma grande quantidade de espécies vegetais com potencial medicinal. Dentre os diversos biomas do território brasileiro, o Cerrado representa o segundo maior, com grande abundância em plantas nativas, registrando-se muitas espécies medicinais (GUARIM-NETO & MORAIS, 2003; KLINK & MACHADO, 2005; MYERS *et al.*, 2000). Contudo, estimativas apontam que o desmatamento total deste bioma até 2008 representava 47,84% da área original, proporcionando um grande risco de perda de potencial biológico de plantas nativas (MMA, 2010). Consequentemente, torna-se necessário conhecer e preservar a biodiversidade do Cerrado brasileiro, assim como estudar e explorar de forma consciente o seu potencial biológico e químico.

Deste modo, o presente estudo foi proposto apropriando-se da eficácia farmacológica das espécies vegetais, destacando a vasta biodiversidade do Cerrado mineiro encontrado no município de Diamantina, região do Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais. Tal apropriação se faz em consonância com a necessidade de desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de algumas enfermidades e a carência de estudos relacionados a várias espécies de plantas da região.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar o estudo fitoquímico preliminar e avaliar atividades biológicas de extratos de plantas do Cerrado provenientes do município de Diamantina/MG, inserido na região do Vale do Jequitinhonha.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Realizar análises fitoquímicas preliminares dos extratos preparados, por meio de reações cromogênicas e de precipitação, com intuito de evidenciar as principais classes de metabólitos secundários presentes;
- b) Avaliar a citotoxicidade dos extratos sobre fibroblastos de camundongo;
- c) Avaliar *in vitro* a atividade antitumoral dos extratos etanólicos sobre células de adenocarcinoma de mama;
- d) Avaliar *in vitro* a atividade tripanocida dos extratos etanólicos contra as formas epimastigotas do *Trypanosoma cruzi*;
- e) Avaliar *in vitro*, a atividade leishmanicida dos extratos etanólicos contra formas promastigotas de *Leishmania* sp;
- f) Avaliar *in vitro* a atividade antibacteriana dos extratos etanólicos contra diferentes espécies;
- g) Avaliar *in vitro* a atividade antifúngica dos extratos etanólicos contra diferentes espécies;
- h) Selecionar os três extratos mais promissores frente as atividades investigadas para futuramente serem submetidos ao fracionamento e avaliação detalhada.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Plantas medicinais no tratamento de infecções humanas

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, planta medicinal pode ser definida como “qualquer vegetal que apresenta substâncias que podem ser utilizadas com finalidades terapêuticas ou que sejam precursoras de fármacos semi-sintéticos”. Essas substâncias recebem o nome de princípios ativos e a planta medicinal, por conseguinte, pode conter um ou mais princípios ativos (MARTINS *et al.*, 2003).

Os princípios ativos são oriundos, principalmente, do metabolismo secundário dos vegetais e se agrupam de acordo com as suas características físicas, propriedades químicas ou atividade biológica. Eles podem ser classificados como ácidos orgânicos, alcalóides, antraquinonas, compostos fenólicos, compostos inorgânicos, cumarinas, flavonóides, glicosídeos cardioativos, saponinas, taninos, terpenos, dentre outros (VIZZOTTO *et al.*, 2010; SIMÕES *et al.*, 2007; MARTINS *et al.*, 2003). Dessa forma, a pesquisa fitoquímica é uma etapa importante no desenvolvimento de novos fármacos, principalmente, quando as espécies não possuem estudos químicos, uma vez que essa pesquisa visa conhecer as classes de constituintes químicos e avaliar sua presença nas espécies vegetais, identificando grupos de metabólitos secundários (SIMÕES *et al.*, 2007). Estes podem ser produzidos pelas plantas em resposta a algum estímulo do meio ambiente e são de grande interesse para a indústria farmacêutica, pois podem apresentar vasta atividade farmacológica, representando potenciais fontes de novas alternativas terapêuticas (ALVES, 2001).

Historicamente, o uso de plantas com a finalidade terapêutica é registrado desde os primórdios da humanidade (BADKE *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2003; VIEGAS JR *et al.*, 2006), sendo por muito tempo uma das únicas alternativas disponíveis, para muitas populações para o tratamento de várias enfermidades (BADKE *et al.*, 2011). A partir da segunda metade do século XX houve um grande avanço da medicina alopática. Contudo, problemas relacionados à dificuldade de acesso aos centros de atendimento à saúde, a obtenção de exames e até mesmo de medicamentos, dificultam, muitas vezes, sua utilização por parte da população carente. Estas razões aliadas à fácil obtenção e à grande tradição do

uso de plantas medicinais contribuem para a sua significativa difusão pelas populações dos países em desenvolvimento (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005).

No tratamento das doenças, as plantas podem ser utilizadas de diferentes formas, incluindo: *in natura* (partes inteiras ou forma rasurada); pulverizada, extratos brutos ou frações enriquecidas, extratos padronizados, tinturas, extratos fluídos e outros; ou podem passar por vários processos de extração e purificação para isolamento de uma substância específica (RATES, 2001). A planta medicinal, quando passa por um preparo e seu derivado (por exemplo, extrato) é incorporado a uma formulação específica, torna-se um medicamento fitoterápico (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005).

A Fitoterapia pode ser definida como a prática terapêutica que utiliza medicamentos que possuem, exclusivamente, substâncias ativas de plantas ou de derivados vegetais, embasados no uso e conhecimento popular, e que tem a sua eficácia, riscos de seu uso, reprodutibilidade e qualidade bem esclarecidos (ANVISA, 2016a; BRASIL, 2012).

Estima-se que cerca de 25% de todos os medicamentos modernos são provenientes direta ou indiretamente de plantas medicinais (BRASIL, 2012). Como exemplo destes fármacos pode-se citar, a codeína e a morfina (*Papaver somniferum*), a atropina (*Atropa beladonna*), a cafeína (*Coffea arábica*), a digoxina (*Digitalis lanata*), a salicina (*Salix alba*) que a partir de uma modificação estrutural originou o ácido acetilsalicílico, a quinina (*Cinchona officinalis*), o taxol (*Taxus brevifolia*), dentre outros com diversas finalidades terapêuticas (NEWMANN & CRAGG, 2016; CALIXTO & SIQUEIRA JUNIOR, 2008; LOACES *et al.*, 2003).

Além disso, muitos estudos revelam a potencialidade da ação farmacológica de muitas espécies vegetais, incluindo um vasto repertório de atividades, como anti-inflamatória (SOARES *et al.*, 2006; MATOS *et al.*, 2003; PUPO *et al.*, 2008; CARDOSO *et al.*, 2003), analgésica (SOARES *et al.*, 2006; CUNHA *et al.*, 2003; DUTRA *et al.*, 2006); antioxidante (SOUSA *et al.*, 2007; MORAIS *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2006a); leishmanicida (REIS *et al.*, 2012; BEZERRA *et al.*, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2011); tripanocida (MOREIRA *et al.*, 2013; MORAIS-BRAGA *et al.*, 2013; SULSEN *et al.*, 2006); antitumoral (YACOOB *et al.*, 2010; SYLVESTRE *et al.*, 2006; MACHADO & MELO-JUNIOR, 2009); antibacteriana, antifúngica (PENNA *et al.*, 2011; DEUS *et al.*, 2011; DINIZ *et al.*, 2010), dentre outras.

Atualmente, existem muitos problemas relacionados com a terapêutica das doenças humanas, seja das doenças crônicas degenerativas quanto das parasitárias causadas por bactérias, fungos ou protozoários. Estes problemas relacionam-se ao pequeno arsenal terapêutico, em alguns casos; baixa eficácia dos fármacos; vias difíceis de administração; desenvolvimento de resistência e dos graves efeitos colaterais, o que compromete a segurança e a efetividade do tratamento (OLIVEIRA & SILVA, 2009; FENNER *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2011; DE PAULA *et al.*, 2013; JANNI & VILLA, 2007; COURA & CASTRO, 2002; MACHADO *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2012; PENNA *et al.*, 2001; ALMEIDA *et al.*, 2004; YACOOB *et al.*, 2010).

Entende-se que na natureza podem ser encontradas diversas substâncias químicas com diversidade estrutural, capazes de constituir novos princípios ativos ou que se firmam como valiosas fontes para a busca de novos fármacos mais seguros, seletivos e menos tóxicos (PIMENTEL *et al.*, 2015; YOUNG, 1999). Este é, portanto, um aspecto importante considerando que o Brasil é detentor de uma rica biodiversidade (MYERS *et al.*, 2000).

Contudo, das 500 mil espécies de plantas catalogadas no mundo poucas tem seu potencial químico e farmacológico estudado cientificamente (MYERS *et al.*, 2000; MELENDEZ & CAPRILES, 2006). Todavia, muitas espécies de plantas são utilizadas empiricamente sem nenhuma comprovação científica (AGRA *et al.*, 2008; HOLEZT *et al.*, 2002).

O Brasil, provavelmente, apresenta a maior biodiversidade do planeta, albergando cerca de 20% do número total de espécies de plantas do mundo (CALIXTO, 2003). Essa rica biodiversidade está distribuída entre os seis biomas predominantes em todo o território nacional, incluindo o Cerrado, os Campos, as Florestas Meridionais, a Floresta Atlântica, a Caatinga, a Floresta Amazônica e o Pantanal (RIBEIRO & WALTER, 1998).

Dentre estes, o Cerrado destaca-se por ser o segundo maior do território brasileiro e por sua grandiosa biodiversidade, abrigando muitas espécies de plantas, das quais poucas foram estudadas (KLINK & MACHADO, 2005; GUARIM NETO & MORAIS, 2003). Este bioma é encontrado na região de Diamantina/MG, inserido no Vale do Jequitinhonha (GIANOTTI *et al.*, 2013), e alguns estudos confirmam o uso na medicina popular de algumas espécies oriundas desta região, como *Miconia ferruginata*, *Ageratum fastigiatum*, *Pseudobrickellia brasiliensis* e *Eriosema crinitum* (BARROSO, 2015; FREITAS, 2013; AMORIM, 2012; SANTOS, 2014). Desta forma, fica evidente a necessidade de maiores

subsídios para pesquisas na área de produtos naturais, objetivando o desenvolvimento de fármacos, explorando a rica biodiversidade desta região.

3.2 Cerrado Brasileiro: Biodiversidade, importância e uso medicinal

De acordo com o Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2016) o Cerrado consiste no segundo maior bioma da América Latina e do território brasileiro, predominando em todo o Planalto Central, nos estados de Goiás, Tocantins, no Distrito Federal, parte da Bahia, do Ceará, de Maranhão, do Mato Grosso, do Mato Grosso do Sul, de Minas Gerais, do Piauí, de Rondônia e de São Paulo (KLINK & MACHADO, 2005; AQUINO & AGUIAR, 2007).

No contexto mundial, o Cerrado brasileiro é considerado a região de savana mais rica e possui mais de 10 mil espécies de plantas nativas (MMA, 2011), distribuídas em 181 famílias (REZENDE *et al.*, 2008; LEFB, 2016), das quais 4.400 são espécies endêmicas (MMA, 2010).

Contudo, diante da atividade de agricultura e da exploração exacerbada dos produtos nativos do Cerrado (KLINK & MACHADO, 2005) algumas espécies já estão ameaçadas de extinção (AQUINO & OLIVEIRA, 2006). Até o ano de 2008 este bioma já tinha 47,84% da sua área total desmatada, gerando um enorme risco de perda de plantas com potencial uso medicinal (MMA, 2010). Atualmente, este bioma tem sido definido com um *hotspot*, que representa uma área crítica para a conservação, baseado na presença de plantas endêmicas e no grau de ameaça ambiental (MITTERMEIER *et al.*, 1998; MYERS *et al.*, 2000; SILVA & BATES, 2002). *Orthophytum amoenum*, *Hyptis imbricatiformis* e *Attalea brasiliensis* são alguns exemplos de espécies vegetais de ocorrência no Cerrado que constam na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (BRASIL, 2014a).

Em decorrência de sua ampla distribuição geográfica e de sua vasta biodiversidade, a fauna e flora do Cerrado apresentam diversos usos pela população regional, incluindo espécies com finalidade alimentar, forrageira, artesanal, ornamental, madeireira, melífera, condimentar, oleaginosa, e em especial medicinal (AQUINO & AGUIAR, 2007). Das espécies de plantas nativas do Cerrado somente cerca de 220 espécies tem uso medicinal descrito para diversos fins (MMA, 2016), como por exemplo, a faveira (*Dimorphandra mollis*) de onde se extrai a rutina, substância responsável por auxiliar no aumento da absorção

de vitamina C, combater à fragilidade capilar, além de possuir ação antioxidante e de prevenir o câncer. Também a mangaba (*Hancornia speciosa*) tem apresentado utilização associada ao tratamento da tuberculose, úlceras e cólicas menstruais (AQUINO & OLIVEIRA, 2006).

Vários estudos comprovam cientificamente o potencial de plantas provenientes do Cerrado como fontes de novas alternativas terapêuticas para várias doenças, incluindo doenças parasitárias e câncer. Entre estes estudos encontram-se descritas as espécies *Erythroxylum daphinites*, *Erythroxylum subrotundum*, *Bauhinia rufa*, *Pouteria ramiflora*, *Pouteria torta*, *Eugenia dysenterica* e *Qualea grandiflora*, que apresentaram atividade antimicrobiana (CORREIA, 2016; MOURA *et al.*, 2012); *Spiranthera odoratissima*, *Diospyros hispida*, e *Casearia sylvestris* var. *língua* com potencial ação tripanocida, leishmanicida e antiplasmódica (MESQUITA *et al.*, 2005; ALBERNAZ, 2010); *Schinus terebinthifolius* var. *radiannus*, *Kielmeyera coriacea*, *Simarouba versicolor* e *Lychnophora trichocarpa*, que apresentaram atividade antitumoral (MESQUITA, 2009; SAÚDE-GUIMARÃES & FARIA, 2007).

Entretanto, dada a grande diversidade, este bioma pode ser considerado pouco explorado, sendo necessários maiores investimentos em pesquisas com plantas provenientes do Cerrado Brasileiro (GUARIM NETO & MORAIS, 2003).

O estado de Minas Gerais, de uma forma geral, é uma área rica no bioma Cerrado, que agrupa cerca de 8.155 espécies de plantas, distribuídas em 175 famílias (LEFB, 2016). O município de Diamantina inserido na região do Vale do Jequitinhonha no noroeste de Minas Gerais, apresenta como vegetação o campo rupestre, que faz parte desse bioma (GIANOTTI *et al.*, 2013), o que confere à localidade uma grande importância biológica e farmacológica, ainda pouco explorada (DRUMMOND *et al.*, 2005).

Saint-Hilaire, naturalista francês, descreveu o uso de várias espécies nativas do Brasil em uma obra literária, em que foram descritos os vários usos que os colonos faziam das plantas, inclusive o medicinal, e a necessidade de realização de estudos científicos atestando a eficácia das plantas medicinais usadas no país. Dentre estas espécies Saint-Hilaire descreveu quinze espécies na região norte/nordeste de Minas Gerais, inclusive da região da atual Diamantina (SAINT-HILAIRE, 2009). Dessa forma, considera-se que esta região pode apresentar plantas com potencial para o tratamento de doenças humanas cujo tratamento apresenta limitações terapêuticas, como câncer, infecções bacterianas e fúngicas bem como

doenças causadas por protozoários como a Leishmaniose e Doença de Chagas, que representam importantes problemas de saúde pública nesta região e no Brasil.

3.3 Doenças Humanas: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêuticas

As doenças infecciosas como Doença de Chagas, Leishmanioses, as bacterianas e fúngicas, e crônicas não transmissíveis, como o câncer, são objetos de grande relevância no que tange a discussão de saúde pública mundial (COSTA *et al.*, 2013b; INCA, 2016a; BRASIL, 2013a; SANTOS, 2004; GIOLO & SVIDZINSKI, 2010). Em geral, o arsenal terapêutico para o tratamento dessas doenças é limitado, apresentando problemas de eficácia, toxicidade, resistência e/ou efeitos colaterais associados aos fármacos disponíveis, fatores que comprometem o sucesso do tratamento (MACHADO *et al.*, 2010; COURA & CASTRO, 2002; DIAS *et al.*, 2009; ALVIANO & ALVIANO *et al.*, 2009; CALIXTO, 2000; GIL *et al.*, 2008; NAKAMURA *et al.*, 2006; FENNER *et al.*, 2006; BERGOLDIS & GEORGIADIS, 2004; PENNA *et al.*, 2001; MOTA *et al.*, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2004; YAACOB *et al.*, 2010; SAKARKAR & DESHMUKH, 2011), tornando-se urgente a busca por novos agentes terapêuticos para tratá-las.

Nesse contexto, as plantas podem ser potenciais fontes de novos fármacos para essas doenças e o sucesso de seus respectivos usos para o tratamento de doenças parasitárias pode ser comprovado, como por exemplo, no tratamento da malária. Neste caso, as duas principais drogas utilizadas no tratamento da doença, quinina e artemisina, foram isoladas de espécies vegetais com tradição milenar de uso na medicina popular (FIDOCK *et al.*, 2004; SOH & BENOIT-VICAL, 2007).

A seguir, serão abordados alguns aspectos biológicos, epidemiológicos, bem como algumas limitações terapêuticas de tratamento de enfermidades, cujo potencial de plantas referentes às atividades antitumoral e antiparasitárias para as mesmas foram investigadas no presente estudo.

3.3.1 Câncer: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêuticas

O Câncer é caracterizado pelo crescimento desordenado (maligno) de células que podem se espalhar, por meio da metástase, para outras regiões do corpo. Existem cerca de 100 tipos de câncer que correspondem aos diversos tipos de células do corpo e a ocorrência de metástase consiste na principal causa de morte por câncer (ALMEIDA *et al.*, 2005; INCA, 2016a; WHO, 2015a).

Segundo o documento da *World Cancer Report 2014* da International Agency for Research on Cancer (Iarc), o câncer consiste em um grave problema de saúde pública, principalmente, nos países em desenvolvimento, onde espera-se 80% dos mais de 20 milhões de novos casos de câncer que são estimados para 2025 (INCA, 2016b).

Os tipos de câncer mais comuns no mundo são o de pulmão, mama, intestino e próstata. No Brasil, é estimada a ocorrência de 600 mil novos casos da doença, para o período de 2016-2017, sendo que o de próstata em homens e o de mama em mulheres serão os mais frequentes (INCA, 2016b).

O tratamento do câncer depende do tipo e de seu estadiamento, podendo ser empregado a cirurgia, radioterapia, quimioterapia ou a combinação de alguma dessas opções (BRASIL, 2011; WHO, 2015; SILVA *et al.*, 2012a; ROSAS *et al.*, 2013). Em geral, a quimioterapia é a alternativa mais utilizada (ALMEIDA *et al.*, 2005; YACOOB *et al.*, 2010). Todavia, o procedimento apresenta limitações relacionadas ao desenvolvimento de resistência aos fármacos, vários efeitos tóxicos incluindo náuseas, vômitos, diarreia, dentre outros, fatores que contribuem para o abandono do tratamento (YACOOB *et al.*, 2010; INCA, 2016c; ALMEIDA *et al.*, 2004; LUISI *et al.*, 2006).

As classes de agentes antineoplásicos/quimioterápicos mais utilizados incluem os alquilantes polifuncionais, os antimetabólitos, os antibióticos antitumorais e os inibidores mitóticos (SCHULZE, 2007; INCA, 2016c).

Os agentes alquilantes polifuncionais (mostardas nitrogenadas, etilenoiminas e metilmelaminas, derivados da metilidrazina e alquil sulfonato) são os medicamentos mais antigos utilizados para tratamento de neoplasias. Contudo, além de exigirem outro agente para um bom efeito clínico causam sérias reações adversas e complicações hematológicas (FERDINANDI & FERREIRA, 2009; SCHULZE, 2007). A cisplatina é um exemplo de fármaco alquilante, porém possui a desvantagem de ser altamente nefrotóxico, provocar

graves efeitos adversos e ainda há relatos do desenvolvimento de resistência quanto a mesma (PERES & CUNHA-JÚNIOR, 2013; BRUNTON *et al.*, 2012).

Já os agentes antimetabólitos podem ser análogos do ácido fólico, análogos da pirimidina, análogos da purina e inibidores enzimáticos (MOREIRA *et al.*, 2016). O metotrexato é um agente antimetabólito análogo do ácido fólico e é essencial para o tratamento da leucemia linfoblástica aguda (LLA) em crianças. No entanto, sua utilização provoca efeitos tóxicos que incluem alopecia, dermatite, nefrotoxicidade e a mielossupressão (BRUNTON *et al.*, 2012). O 5-fluorouracil, outro antimetabólito, é amplamente utilizado no tratamento de tumores gastrointestinais e de cabeça e pescoço, mas seu uso está associado a sérios efeitos cardiotóxicos (ROCHA *et al.*, 2013), assim como no uso da Doxorubicina, antibiótico antitumoral, vastamente empregado para tratamento do câncer de mama (MARTINS *et al.*, 2011; SAAD *et al.*, 2007).

No panorama mundial nota-se uma constante busca por novos medicamentos anticancerígenos que ofereçam tratamentos mais efetivos ou que impeçam o avanço da doença. Dessa forma, a pesquisa de novos agentes anticancerígenos em plantas constitui uma boa fonte para a descoberta desses medicamentos, já que muitos utilizados para o tratamento do câncer são de origem vegetal (BRANDÃO *et al.*, 2010). Um dos exemplos mais relevantes é o da *Catharanthus roseus*, conhecida popularmente como Vinca de onde foram isolados os alcalóides Vinblastina e Vincristina, utilizados para tratamento de linfoma Hodgkin, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e testículos e leucemia linfoblástica aguda infantil. O etoposídeo e o teniposídeo, são derivados semi-sintéticos obtidos de podofilotoxina, substância isolada de espécie vegetal. E a descoberta mais importante foi do paclitaxel (Taxol), substância isolada da *Taxus brevifolia*. em 1971 (NOBILI *et al.*, 2009; MANN, 2002).

Nesse contexto, há cada vez mais pesquisas com espécies de plantas que seriam capazes de oferecer substâncias anticancerígenas mais efetivas e seguras para o tratamento do câncer. Segundo Yaacob *et al.* (2010), a fração diclorometânica das folhas de *Strobilanthes crispus* apresentou potente atividade antitumoral frente as linhagens de células de câncer de mama e de próstata. Extrato etanólico de toda a espécie *Urtica membranacea*, *Artemesia monosperma* e *Origanum dayi post* apresentaram capacidades de matar várias linhagens de células tumorais humanas, dependente do tempo, não apresentando toxicidade sobre células normais (SOLOWEY *et al.*, 2014). O extrato metanólico de *Indigofera linnaei* apresentou

forte citotoxicidade frente às células HeLa, HEp-2, HepG-2, MCF-7, HT-29, sem demonstrar citotoxicidade contra células normais (KUMAR *et al.*, 2011).

3.3.2 Doenças de Chagas: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêutica

A Doença de Chagas, também denominada Tripanossomíase Americana, tem como agente etiológico o *Trypanossoma cruzi*, um protozoário hemoflagelado pertencente à ordem Kinetoplastida e a família Trypanosomatidae (CHAGAS, 1909). É considerada uma doença negligenciada (NAVARRO *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012a) com a estimativa de cerca de 6-7 milhões de pessoas infectados pelo *T. cruzi*, sendo a América Latina a região de maior ocorrência. Entretanto, nas últimas décadas a Doença de Chagas tem sido cada vez mais detectada nos Estados Unidos da América, Canadá, em muitos países da Europa e em alguns do Pacífico Ocidental devido à migração de pessoas entre a América Latina e mundialmente, e ao risco de transmissão pela transfusão sanguínea (WHO, 2016a).

No Brasil há um predomínio dos casos crônicos da Doença de Chagas com estimativa de aproximadamente três milhões de indivíduos infectados. Contudo, ultimamente, tem sido verificados casos de fase aguda da doença com ocorrência nos estados da Amazônia legal e, casos isolados, em outros estados associados, principalmente a surtos familiares por meio da transmissão por via oral do *T. cruzi* relacionados à ingestão de alimentos contaminados (BRASIL, 2014b; FIOCRUZ, 2013; PINTO *et al.*, 2008).

A infecção pode ser adquirida por diferentes formas sendo a via vetorial a mais importante, responsável por 80% dos casos, seguida da via transfusional com utilização de sangue de paciente infectado contendo formas tripomastigotas sanguíneas e, da via congênita em gestantes sorologicamente positivas. Outras possíveis vias de contaminação incluem acidentes laboratoriais com sangue ou conteúdo intestinal do triatomíneo infectado, transplante de órgãos e a transmissão oral (DIAS & COURA 1997, COURA, 2007), que tem ganhado importância, devido aos surtos de Doença de Chagas relatados no Brasil (PINTO *et al.*, 2008; COURA, 1997; STEINDEL *et al.*, 2008).

A infecção chagásica apresenta um curso clínico crônico. A fase aguda inicial é caracterizada por uma elevada parasitemia que dura poucas semanas e, geralmente, é

assintomática. Após este período o indivíduo entra na fase crônica da doença, em que a maioria dos indivíduos pode desenvolver a forma indeterminada da doença, (sem sinais clínicos e patológicos) ou cerca de 30% podem desenvolver as formas cardíacas, digestiva e/ou mista (BRENER, 1987).

A terapia atual para o tratamento da Doença de Chagas consiste em dois fármacos, o benzonidazol e o nifurtimox (revisado por MACHADO *et al.*, 2010; RASSI *et al.*, 2012). Contudo, ambos apresentam maior efetividade para o tratamento das infecções agudas, sendo pouco eficazes para infecções crônicas (DIAS *et al.*, 2009; FERREIRA, 1990; JANNIN & VILLA, 2007). Estudos mostram que esta diferença de efetividade dos fármacos convencionais para o tratamento da Doença de Chagas pode estar associada com as diferenças geográficas de susceptibilidade do *T. cruzi* aos fármacos, decorrente da diversidade genética que o parasita apresenta (ANDRADE *et al.*, 1985; ANDRADE *et al.*, 1992; NEVES *et al.*, 2011a; COURA & CASTRO, 2002; TIBAYRENC & AYALA, 1998; REVOLLO *et al.*, 1998; TOLEDO *et al.*, 2003; ANDRADE *et al.*, 1989) e, também, devido ao surgimento de cepas resistentes e infecções mistas (CAMPOS *et al.*, 2009; MARTINS *et al.*, 2009).

Além da ineficácia apresentada pelos medicamentos padrões, os mesmos apresentam sérios efeitos colaterais (MACHADO *et al.*, 2010). No caso do Nifurtimox, registram-se alterações psíquicas, anorexia, irritabilidade, sonolência, náuseas, vômitos e diarreia. No tratamento com benzonidazol as reações mais comuns incluem dermatite com erupções cutâneas, parestesias, polineurite dos nervos periféricos, depressão do osso e medula que leva a púrpura trombocitopênica e agranulocitose (OLIVEIRA *et al.*, 2008a; COURA & CASTRO, 2002; SOUZA *et al.*, 2012). Esses fatores favorecem a baixa adesão do tratamento (URBINA & DOCAMPO, 2003), contribuindo assim para seu fracasso e/ou resistência aos fármacos.

Levando em consideração a toxicidade e a baixa eficácia dos fármacos, bem como, a falta de interesse da indústria farmacêutica em desenvolver novos medicamentos, por se tratar de uma doença que afeta a população menos favorecida, há uma necessidade eminente em pesquisas envolvendo a formulação de novos medicamentos que sejam mais seguros e eficazes no tratamento da Doença de Chagas (SAÚDE-GUIMARÃES & FARIA, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2008a; DIAS *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2012).

Nesse sentido, as plantas representam fontes potenciais de compostos bioativos para desenvolvimento de novos fármacos para tratamento da Doença de Chagas (ALVIANO *et al.*, 2012; SAÚDE-GUIMARÃES & FARIA, 2007; MUELAS-SERRANO *et al.*, 2000) e vários

estudos têm sido realizados, na tentativa de descobrir novas alternativas de tratamento para a doença, demonstrando a presença de componentes ativos contra esse parasita. Exemplificando, Alves *et al.*, (2012) ao realizarem uma triagem em 92 extratos de várias espécies vegetais contra a cepa Y e da Bolívia de *T. cruzi*, encontraram como resultados mais promissores os dos extratos etanólicos de *Ocotea paranapiacabensis* e de *Aegiphila lhotzkiana*. O extrato de acetato de etila das folhas de *Spiranthera odoratissima* apresentou uma IC₅₀ de 56,3 µg/mL frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (ALBERNAZ *et al.*, 2010). Das folhas de *Plectranthus barbatus* foi isolado um derivado de ácido gálico, identificado como 1,2,3,4,6-penta-O-galoil-β-D-glucose (PGG), que apresentou atividade contra as formas tripomastigotas de *T. cruzi*, com EC₅₀ de 67 µM, mais eficaz do que o benzonidazol (SANTOS *et al.*, 2012b). Extratos oriundos das espécies *Ambrosia scabra*, *Ambrosia tenuifolia*, *Baccharis spicata*, *Eupatorium buniifolium*, *Lippia integrifolia*, *Mulinum espinhosa* e *Satureja parvifolia* mostram atividade tripanocida com uma percentagem de inibição do crescimento superior a 70% a uma concentração de 100 µg/mL (SULSEN *et al.*, 2006). Dois metabólitos secundários isolados do extrato hidro-etanólico das partes aéreas de *Aristeguietia glutinosa* causaram uma redução da parasitemia de animais infectados com *T. cruzi* (VARELA *et al.*, 2014). As lactonas sesquiterpênicas, enidrina, uvedalina e polimatina B, foram isoladas de *Smallanthus sonchifolius* e, estas apresentaram atividade tripanocida significativa contra as formas epimastigotas e amastigotas de *T. cruzi* (FRANK *et al.*, 2013).

3.3.3 Leishmanioses: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêuticas

Considerada um grave problema de saúde pública, as Leishmanioses, são um complexo de doenças causadas por protozoários de mais de 20 espécies do gênero *Leishmania* (ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae) (ROSS, 1903). Sua transmissão ocorre pela picada da fêmea de flebotomíneos infectados, pertencentes à subfamília Phlebotominae, gêneros *Lutzomya* (Américas) e *Phlebotomus* (África, Europa e Ásia) (LAINSON *et al.*, 1985).

No Brasil as espécies que provocam Leishmaniose Tegumentar Americana em humanos, são basicamente: *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Leishmania (Viannia) lainsoni*, *Leishmania (Viannia) shawi*, *Leishmania*

(*Viannia*) *naiffi* e *Leishmania* (*Viannia*) *amazonensis* (LAINSON *et al.*, 1979, GONTIJO & CARVALHO, 2003). Já a que causa a Leishmaniose Visceral, no território brasileiro, é a *Leishmania chagasi* e sua transmissão ocorre, principalmente, pela picada do inseto vetor, *Lutzomyia longipalpis* (LAINSON *et al.*, 1985).

Esta doença, no hospedeiro vertebrado, pode apresentar diversas formas clínicas que serão determinadas pela espécie de *Leishmania* e a condição imunológica do hospedeiro (ALMEIDA *et al.*, 2003; MAYRINK *et al.*, 2006; CUNA *et al.*, 2007). Essas formas clínicas podem ser divididas em: Leishmaniose visceral (LV) forma mais grave da doença podendo ser fatal quando não é tratada e, Leishmaniose Tegumentar que envolve as formas Muco-cutânea (LMC), uma forma mutilante; Leishmaniose cutânea difusa (LCD) que possui uma longa duração e a forma cutânea (LC) forma mais comum, mas que pode tornar-se incapacitante quando há multiplicação das lesões (CONVIT *et al.*, 1989; COSTA *et al.*, 1992; DESJEUX, 2004; HALDAR *et al.*, 2011).

Mundialmente, há mais de 12 milhões de pessoas com Leishmaniose e 350 milhões de pessoas estão em risco. A cada ano surgem 1,3 milhões de novos casos e cerca de 20.000 a 30.000 pessoas vão a óbito pela doença (PAHO, 2015). Segundo a PAHO (2015), a leishmaniose é endêmica em 98 países e territórios e estima-se que 75% de todos os casos de leishmaniose cutânea estão concentrados em 10 países, dos quais quatro são das Américas, incluindo o Brasil, que representa ainda um dos seis países em que se concentra 90% dos casos de leishmaniose visceral.

A Leishmaniose Tegumentar (LT) apresentou média anual de 26.965 casos autóctones no Brasil entre 1993 a 2012. Quando se analisa a progressão da LT no Brasil, observa-se uma expansão geográfica, uma vez que no início da década de 1980 eram observados casos autóctones em 19 estados brasileiros e já no ano de 2003 estes casos podiam ser verificados em todos os estados. Na região Norte foi verificado o maior número de casos, seguida da região centro-oeste e nordeste (BRASIL, 2014b).

Dos 12 países da América Latina acometidos pela Leishmaniose Visceral, 90 % dos casos ocorrem no Brasil, especialmente no Nordeste. No passado a doença apresentava caráter rural, contudo vem se expandido para os centros urbanos (BRASIL, 2006). Segundo o Ministério da Saúde, do ano de 1984 a 2002, os casos de LV somaram 48.455, sendo que cerca de 66% destes, foram registrados na Bahia, Ceará, Maranhão e Piauí (BRASIL, 2006).

O tratamento de primeira escolha para a Leishmaniose no Brasil consiste, há mais de 60 anos, no uso dos compostos antimoniais, em forma de sais pentavalentes, comercialmente conhecidos como Glucantime[®] e Pentostan[®] (BERMAN, 1988), com índice de cura de 60-90%, porém, com inconvenientes não superados, como a necessidade de administração parenteral e sérios efeitos colaterais como, cardiotoxicidade, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (BERMAN, 1997).

O Glucantime provoca rápida regressão das manifestações clínicas e hematológicas da doença (RATH *et al.*, 2003). Contudo, devido às baixas dosagens e tratamentos descontínuos, houve o surgimento de resistência de parasitas, ocasionando falhas na terapia medicamentosa (BALAÑA-FOUCE *et al.*, 1998).

Em casos de contra-indicações, intolerância e resistência aos antimoniais, a anfotericina B lipossomal, pentamidina, paramomicina e miltefosina são algumas alternativas terapêuticas para o tratamento das Leishmanioses. Entretanto, estes medicamentos possuem sua utilização limitada por apresentarem efeitos colaterais ou preço para produção da formulação elevado (BERMAN, 1988; LIMA *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2011a).

A Anfotericina B pode ser encontrada em formulações lipossomais, que também são benéficas, uma vez que os lipossomas são fagocitados pelos macrófagos, permitindo interação direta com o ergosterol do parasita, o que proporciona uma maior eficácia e tolerabilidade da droga (LOPEZ-BERESTEIN *et al.*, 1989; CROFT & COOMBS, 2003), mas o seu alto custo e a necessidade de administração venosa dificultam a sua utilização (PAULA *et al.*, 2003; BRASIL, 2006).

Há registros de resultados promissores com a utilização da Miltefosina por via oral para o tratamento do Calazar na Índia (SUNDAR & MURRAY, 2005; BRASIL, 2006b). Todavia seu emprego se torna limitado devido a sua toxicidade (PRASAD *et al.*, 2004a) e a possibilidade da substância permanecer em níveis subterapêuticos no plasma do paciente durante algumas semanas, o que poderia levar ao surgimento de resistência (BRYCESON, 2001). Esta droga ainda não teve seu uso regulamentado no Brasil. No entanto, já foi empregada em dois estudos de LC na Bahia (MACHADO *et al.*, 2010b) e no Amazonas (CHRUSCIK-TALHARI *et al.*, 2011) e em ambos foi verificado que o uso de miltefosina foi mais seguro e com maior taxa de cura quando comparado com o antimoniato.

A Pentamidina também pode ser empregada no tratamento da Leishmaniose. Todavia, esse medicamento pode ocasionar efeitos colaterais como tontura, mialgia, cefaléia, hipotensão, tem eficácia mais baixa quando comparada com outras alternativas e sua toxicidade limita seu emprego (RATH *et al.*, 2003; NEVES *et al.*, 2011b; BALAÑA-FOUCE *et al.*, 1998).

Neste contexto, a busca por substâncias ativas, que possam dar origem a novos medicamentos para o tratamento das Leishmanioses torna-se urgente, considerando os problemas relatados. Neste caso, as espécies vegetais podem representar uma alternativa muito promissora para o desenvolvimento de novos medicamentos com ação leishmanicida (CARVALHO & FERREIRA, 2001; CALIXTO, 2000; GIL *et al.*, 2008).

Atualmente, existem várias pesquisas voltadas para a descoberta de novos compostos ativos a partir de plantas para o tratamento das Leishmanioses, que têm demonstrado resultados promissores. Dentre elas pode-se citar que a fração hexânica de *Piper arboreum* nas concentrações de 500 e 1000 µg/mL apresentaram uma mortalidade de 100% e 92%, respectivamente, para as formas promastigotas de *L. brasiliensis* (FIGUEIREDO *et al.*, 2014). Os extratos das espécies *Julocroton triqueter* (Lam.) Didr. var. *triqueter*, *Dichorisandra sp* e *Tephrosia cinerea* apresentaram significativa eficácia em induzir a morte das promastigotas, com IC₅₀ de 29,5, 32,9 e 43,6 µg/mL, respectivamente. *Passiflora edulis*, *Chenopodium ambrosioides* e *Syzygium jambolanum* apresentaram eficácia moderada com IC₅₀ de 150,1; 151,9 e 166,6 µg/mL, respectivamente (BEZERRA *et al.*, 2006). As frações hexânica e clorofórmica oriundas do extrato hidroalcoólico das folhas de *Chenopodium ambrosioides*, foram também tóxicas para as formas promastigotas de *L. amazonensis*, com IC₅₀ de 177,0 e 220,0 µg/mL (REIS *et al.*, 2012). No estudo realizado por Ribeiro *et al.* (2014), os extratos mais potentes contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*, foram o extrato hexânico de *Dipteryx alata* (IC₅₀ de 0,08 µg/mL), o extrato hexânico de *Syzygium cumini* (IC₅₀ de 31,64 µg/mL), os extratos etanólico e hexânico de *Hymenaea courbaril* (IC₅₀ de 44,10 µg/mL e 35,84 µg/mL, respectivamente), o extrato etanólico de *Hymenaea stignocarpa* (IC₅₀ de 4,69 µg/mL) o extrato etanólico de *Jacaranda caroba* (IC₅₀ de 13,22 µg/mL) e o extrato etanólico de *Jacaranda cuspidifolia* (IC₅₀ de 10,96 µg/mL). Os extratos de *D. alata* e *J. cuspidifolia* apresentaram maior IS, com alta atividade leishmanicida e baixa citotoxicidade nas células de mamíferos. Foram avaliados também os extratos e/ou frações de *D. alata* e *J. cuspidifolia* que levou a uma redução de 95,80%, 98,31% e 97,16%, respectivamente, da carga parasitária em macrófagos infectados.

3.3.4 Infecções Bacterianas: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêuticas

As bactérias são organismos unicelulares identificados pela primeira vez em meados dos anos 1670 por Leeuwenhoek (GUIMARÃES *et al.*, 2010). Elas apresentam ubiquidade podendo ser patogênicas ou não ao seu hospedeiro (SANTOS, 2004). Sua patogenicidade está relacionada com a sua capacidade de transmissão e aderência, invasão de células e tecidos e por conseguirem escapar dos mecanismos do sistema imunológico (BROOKS *et al.*, 2012).

O descobrimento dos antibióticos foi um grande avanço para o tratamento de diversas infecções humanas (MOTA *et al.*, 2005). Eles possuem a capacidade de inibir ou matar micro-organismos e podem ser compostos naturais ou sintéticos (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

A penicilina foi o primeiro antibiótico descoberto e modificou o tratamento das infecções bacterianas. Seu mecanismo de ação consiste na inibição da síntese da parede celular bacteriana. Contudo, o surgimento e a disseminação da resistência a antibióticos limitaram a utilização dessa classe de medicamentos (GOLAN *et al.*, 2009).

No decorrer dos anos foram surgindo diversos antibióticos com diferentes espectros de ação. Como exemplo, os β -lactâmicos (cefalosporina) aminoglicosídeos (estreptomicina), tetraciclina (clortetraciclina), macrolídeos (eritromicina), peptídeos (vancomicina) e outros (cloranfenicol, rifamicina B, clindamicina e polimixina B) (GUIMARÃES *et al.*, 2010; GOLAN *et al.*, 2009).

Entretanto, a utilização indiscriminada dos antibióticos ocasionou, em todo o mundo, o surgimento de diversas cepas de bactérias resistentes. Atualmente, a resistência bacteriana aos antibióticos, é um grave problema de saúde pública, que afeta países desenvolvidos, ou não (MOTA *et al.*, 2005; ARASON *et al.*, 1996; TAVARES, 2000; SANTOS, 2004; OLIVEIRA & SILVA, 2008). Além da resistência, o estado imunológico do paciente causa dificuldade no tratamento das infecções bacterianas, (SANTOS, 2004; SELIGMAN, 2004; MACEDO & SANTOS, 2006). A imunodepressão pode ser causada pela AIDS, utilização de terapia imunodepressora e transplantes de órgãos ou de medula óssea (SILVA, 2010).

No quadro 1, encontram-se descritas algumas espécies de bactérias que estão envolvidas nas infecções nosocomiais, que apresentam resistência aos antibióticos convencionais e que serão utilizadas no presente estudo para a avaliação da atividade antibacteriana.

Quadro 1: Espécies de bactérias utilizadas na avaliação da atividade antibacteriana, sua classificação, doenças ocasionadas e resistência aos antibacterianos.

Espécie	Classificação	Infeção/Doença	Resistência
<i>Escherichia coli</i>	<p>- Bacilo Gram-negativo, pertencente à família Enterobacteriaceae (MURRAY, 2002; BRASIL, 2013a).</p> <p>- Dependendo dos serotipos e mecanismos patogênicos, a <i>E. coli</i> pode ser classificada em enterotoxigênica, enteropatogênica, enteroinvasiva e enterohemorrágica (MELIÇO-SILVESTRE & CUNHA, 2008; SANTOS <i>et al.</i>, 2009a; KAPER <i>et al.</i>, 2004).</p>	<p>- Associada a infecções intestinais, meningite, infecções no trato urinário, pneumonia e infecções cirúrgicas (RODRIGUES <i>et al.</i>, 2010; KAPER <i>et al.</i>, 2004; LEVINE, 1984).</p>	<p>- Ampicilina, cefalotina, sulfametoxazol + trimetoprima, tetraciclina, gentamicina e ciprofloxacina (BRAOLOS <i>et al.</i>, 2009; LUJÁN <i>et al.</i>, 2012).</p>
<i>Proteus mirabilis</i>	<p>- Bacilo Gram-negativo pertencente à família Enterobacteriaceae (SATO <i>et al.</i>, 2005; MOBLEY & BELAS, 1995).</p>	<p>- Associada à infecção do trato urinário desencadeando bacteriúria, cistite, pielonefrite aguda ou cálculos urinários (PEARSON <i>et al.</i>, 2008; MOBLEY & BELAS, 1995; BRAOLOS <i>et al.</i>, 2009; CARVALHO & ZERINGOTA, 2005).</p>	<p>- Quinolonas, penicilinas e outros β-lactâmicos, cefoxitina, nitrofurantoína, tetraciclina e clorafenicol (COUDRON <i>et al.</i>, 2000; WANG <i>et al.</i>, 2009; PAGANI <i>et al.</i>, 2002; BRAOLOS <i>et al.</i>, 2009; PEARSON <i>et al.</i>, 2008).</p>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<p>- Bastonete Gram-negativo, pertencente à família Pseudomonadaceae (BELTRAME <i>et al.</i>, 1999; OSMON <i>et al.</i>, 2004)</p>	<p>- Causa bacteremia em vítimas de queimaduras, de infecções do trato urinário em pacientes cateterizados e de pneumonia em pacientes com respiradores (BODEY <i>et al.</i>, 1983);</p> <p>- Associada a infecções oportunistas em</p>	<p>- Fluoroquinolonas, como ciprofloxacina (LIVERMORE, 2002; DOSTAL <i>et al.</i>, 1992; BROWN & IZUNDU, 2004); aos β-lactâmicos (LIVERMORE, 2002); as polimixinas (BROWN & IZUNDU, 2004); e carbapenêmicos (FERNANDES <i>et al.</i>,</p>

		pacientes com fibrose cística, câncer e diabetes; e pacientes imunocomprometidos (STOVER <i>et al.</i> , 2000; YOUNG <i>et al.</i> , 1973; PELLEGRINO <i>et al.</i> , 2002; FUENTEFRÍA <i>et al.</i> , 2008).	2010; YONG <i>et al.</i> , 2014).
<i>Staphylococcus aureus</i>	- Coco Gram-positivo e catalase-positivo, pertencente à família Micrococcae. (SANTOS <i>et al.</i> , 2007).	- Associada a espinhas, furúnculos, celulites, pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia (SANTOS <i>et al.</i> , 2007), gastroenterite ou intoxicação alimentar estafilocócica (DINGES <i>et al.</i> , 2000).	- Penicilinas, meticilinas, eritromicina, cloranfenicol, estreptomicina, penicilina, ampicilina, amoxilina, gentamicina e vancomicina (GOULART <i>et al.</i> , 2015; MARTINS <i>et al.</i> , 2007; OLIVEIRA & SILVA, 2008; MELIÇO-SILVESTRE & CUNHA, 2008; SANTOS <i>et al.</i> , 2007; SANTOS <i>et al.</i> , 2004)

Dentre as bactérias descritas, a *E. coli* predomina nas infecções hospitalares e da comunidade (MURRAY, 2002; BRASIL, 2013a), representando cerca de 70-90% dos casos de infecções do trato urinário de pacientes hospitalizados e ambulatoriais (BRAOLOS *et al.*, 2009; LOPES *et al.*, 2012).

P. aeruginosa também é uma das principais causas de infecções nosocomiais, principalmente, em pacientes imunocomprometidos (PELLEGRINO *et al.*, 2002; FUENTEFRIA *et al.*, 2008) e é considerada um importante patógeno oportunista, acompanhado de *P. mirabilis* (STOVER *et al.*, 2000; PEARSON *et al.*, 2008; MOBLEY & BELAS, 1995).

S. aureus também é considerado um dos mais importantes patógenos das infecções hospitalares e comunitárias, sendo responsável por ocasionar elevados índices de morbimortalidade (RODRIGUES *et al.*, 2012a; OSMON *et al.*, 2004; MARTINEZ & FIGUEIREDO, 2003). A vancomicina era o único antibiótico para tratamento de infecções por *S. aureus* resistentes à Meticilina. Contudo, diversos isolados já vêm apresentando resistência a este fármaco (SANTOS *et al.*, 2004; GOULART *et al.*, 2015).

Assim, considerando que a resistência bacteriana é uma grave e importante problema de saúde pública (MOTA *et al.*, 2005; ARASON *et al.*, 1996; TAVARES, 2000; SANTOS, 2004; OLIVEIRA & SILVA, 2008) e a existência de cepas bacterianas resistentes em conjunto com a ocorrência de infecções oportunistas associadas com situações de imunossupressão, faz-se necessário a busca por novos compostos antimicrobianos que proporcionem um tratamento mais efetivo (PENNA *et al.*, 2001). Neste contexto, os produtos naturais podem constituir também como fontes promissoras para o descobrimento de novos agentes antibacterianos (DUARTE, 2006; GUIMARÃES *et al.*, 2010; PENNA *et al.*, 2001; COWAN, 1999).

Corroborando tal observação, vários trabalhos têm apresentado resultados favoráveis ao avaliarem a atividade antibacteriana de produtos naturais frente *E. coli* (SIMONETTI, 2015; PACKER & LUZ, 2007; BUSTAMANTE *et al.*, 2010; FERRONATTO *et al.*, 2007), *P. mirabilis* (GONÇALVES *et al.*, 2005; DIAS *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2006b; BIASI *et al.*, 2009), *P. aeruginosa* (CARVALHO *et al.*, 2014; BUSTAMANTE *et al.*, 2010; AURICCHIO *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2008c) e *S. aureus*, (GARCIA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2007a; ANDRADE *et al.*, 2005; AURICCHIO *et al.*, 2007; GONÇALVES *et al.*, 2005).

3.3.5 Infecções Fúngicas: aspectos biológicos, epidemiológicos e limitações terapêuticas

Os fungos pertencem ao Reino Fungi e são organismos eucariotos e ubiqüitários. As espécies que causam as micoses podem apresentar-se sob dois tipos morfológicos: leveduras, que são organismos unicelulares, e fungos filamentosos, que são multicelulares (MURRAY *et al.*, 2006; BERGOLD & GEORGIADIS, 2004; ANVISA, 2016b; LEVINSON, 2016).

As infecções fúngicas hospitalares passaram a ter uma grande importância nos últimos anos, devido ao seu expressivo aumento e por provocarem altas taxas de morbidade e mortalidade. Entre estas, a Candidíase e Aspergilose são as mais frequentes e que causam mais mortalidade (NAKAMURA *et al.*, 2013; FENNER *et al.*, 2006; BERGOLD & GEORGIADIS, 2004), ainda mais quando associados a pacientes com quadros de imunossupressão (MACEDO & SANTOS, 2006; SILVA, 2010).

As leveduras mais frequentes nas infecções hospitalares pertencem ao gênero *Candida*. Os fungos filamentosos também estão envolvidos nessas infecções, sendo que o gênero *Aspergillus sp.* é o fungo oportunista mais relatado, principalmente, em pacientes transplantados. Outros gêneros, tais como *Fusarium sp.*, *Acremonium sp.* e *Penicillium sp.* também podem causar infecções hospitalares localizadas ou disseminadas (ANVISA, 2016b).

As espécies do gênero *Candida* estão entre os fungos de maior importância médica, pela grande frequência que infectam o ser humano. Os fungos deste gênero compõem a microbiota normal, sendo que cerca de 20 a 80% de adultos possuem espécies de *Candida* na região gastrointestinal e 20 a 30% das mulheres apresentam espécies colonizando a região vaginal (COLOMBO *et al.*, 2012; COLOMBO & GUIMARÃES, 2003).

Existem cerca de 150 espécies dentro do gênero *Candida* (DIGNANI *et al.*, 2003), mas apenas algumas estão implicadas nas infecções humanas, as quais estão incluídas, principalmente, a *Candida albicans*, a *Candida krusei*, a *Candida tropicalis* e a *Candida famata* (GOMÉZ *et al.*, 2010).

Dessas espécies, a *C. albicans*, é um importante patógeno oportunista de seres humanos (CALDERONE & FONZI, 2001; SUDBERY *et al.*, 2004; McCULLOUGH *et al.*, 1996; CUTLER, 1991) e representa a levedura mais comum em causar candidemia nos Estados Unidos, América Latina e Europa (PFALLER & DIEKEMA, 2007)- Quadro 2.

C. famata, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *A. niger* e *P. expansum* também possuem caráter oportunista e são fungos de grande importância nosocomial (KRCMERY & BARNES, 2002; ELKAMOUNI *et al.*, 2011; SINGH *et al.*, 2002; SAMARANAYAKE & SAMARANAYAKE, 1994; MENEZES *et al.*, 2009a; LOUDON *et al.*, 1996; MORAES *et al.*, 2016; ALMEIDA, 2016; SCHUSTER *et al.*, 2002; VISAGIE *et al.*, 2014, GUGNANI *et al.*, 1978; SINGH *et al.*, 2009), sendo que a *C. krusei* é considerada uma levedura patogênica multirresistente, uma vez que é naturalmente resistente ao fluconazol (SCORZONI *et al.*, 2013; GUZEL *et al.*, 2013; PFALLER *et al.*, 2008a) e a *C. tropicalis* é o principal agente causador de candidemia nosocomial na Índia (KOTHAVADE *et al.*, 2010).

A anfotericina B, desde 1950, é o antibiótico mais utilizado para tratamento de infecções fúngicas graves, porém apresenta elevada toxicidade. Para contornar tal situação, na década de 90, foram desenvolvidas as formulações lipídicas de anfotericina B e a classe dos azóis (fluconazol e itraconazol) Estes novos medicamentos ofereciam vantagens sobre a anfotericina B, contudo a formulação, o espectro de ação e/ou desenvolvimento de resistência, limitam atualmente o seu uso (PETRIKKOS & SKIADA, 2007; SABLE *et al.*, 2008; MAERTENS & BOOGAERTS, 2005;).

Nos últimos anos, novos antifúngicos triazóis e as equinocandinas foram aprovados para uso. São fármacos com um bom perfil farmacocinético, grau de toxicidade e espectro de ação (BUSTAMANTE, 2005; PETRIKKOS & SKIADA, 2007). Entretanto, o fato de ser administrado, na maioria das vezes, por via endovenosa e o restrito espectro de ação limitam o uso clínico das equinocandinas em infecções mais graves. Já o triazóis apresentam efeitos adversos, interação com muitas outras drogas e não podem ser administrados em gestantes (MARTINEZ, 2006).

No quadro 2, estão descritas algumas espécies de fungos leveduriformes e filamentosos de interesse médico, com problemas relacionados ao tratamento, que serão utilizados neste estudo como modelo para triagem da potencial atividade antifúngica.

Quadro 2: Espécies de fungos utilizadas na avaliação da atividade antifúngica, sua classificação, doenças ocasionadas e resistência aos antifúngicos.

Espécie	Classificação	Doença	Resistência
<i>Candida albicans</i>	- Fungo leveduriforme pertencente à classe dos Hemiascomicetos (MURRAY <i>et al.</i> , 2006).	- Candidíase oral e genital, candidemia e infecções sistêmicas fatais (imunocomprometidos) SUDBERY <i>et al.</i> , 2004; McCULLOUGH <i>et al.</i> , 1996; CUTLER, 1991; PFALLER & DIEKEMA, 2007).	- Azólicos, como fluconazol (SANGLARD & ODDS, 2002; QUINTERO, 2010; SANGLARD <i>et al.</i> , 1998).
<i>Candida famata</i>	- Fungo leveduriforme pertencente à classe dos Hemiascomicetos (MURRAY <i>et al.</i> , 2006). - Também conhecido por <i>Debaryomyces hansenii</i> (TOUBAS & DEPAQUIT, 2012)	- Candidemia (pacientes em quimioterapia) (KRCMERY & BARNES, 2002; ELKAMOUNI <i>et al.</i> , 2011).	- Flucitosina e fluconazol (PFALLER, <i>et al.</i> , 2003).
<i>Candida krusei</i>	- Fungo leveduriforme pertencente a classe dos Hemiascomicetos (MURRAY <i>et al.</i> , 2006).	- Fungemia disseminada (pacientes comprometidos, especialmente, com leucemia); endoftalmite; artrite; endocardite; e vulvovaginite recorrente em mulheres (SINGH <i>et al.</i> , 2002; SAMARANAYAKE & SAMARANAYAKE, 1994).	- Azóis, como o fluconazol, flucitosina e anfotericina B (SAMARANAYAKE & SAMARANAYAKE, 1994; SCORZONI <i>et al.</i> , 2013; GUZEL <i>et al.</i> , 2013; PFALLER <i>et al.</i> , 2008a).
<i>Candida tropicalis</i>	- Fungo leveduriforme pertencente à classe dos Hemiascomicetos (MURRAY	- Candidemia, principalmente em	- Flucitosina e aos azóis, como o fluconazol (CHONG <i>et al.</i> , 2012; LAW,

	<i>et al.</i> , 2006).	pacientes mais velhos com doenças malignas hematológicas e problemas respiratórios crônicos e pacientes neutropênicos (MENEZES <i>et al.</i> , 2009; KOTHAVADE <i>et al.</i> , 2010; FERNANDÉZ-RUIZ, <i>et al.</i> , 2015; PARAHYM <i>et al.</i> , 2011; KONTOYIANNIS <i>et al.</i> , 2001; MOTTA <i>et al.</i> , 2010).	<i>et al.</i> , 1996; VANDEPUTTE <i>et al.</i> , 2005)
<i>Aspergillus niger</i>	- Fungo filamentoso pertencente à classe dos Eufomicetos (MURRAY <i>et al.</i> , 2006).	- Aspergilose; infecção intra-ocular em paciente HIV – positivo; pneumonia fúngica necrosante; otomicose bilateral entre outras patologias (LOUDON <i>et al.</i> , 1996; MORAES <i>et al.</i> , 2016; ALMEIDA, 2016; PAULA <i>et al.</i> , 2006; PERSON <i>et al.</i> , 2010; MISRHA <i>et al.</i> , 2004).	- Voriconazol, clotrimazol, itraconazol, entre outros antifúngicos azóis (PFALLER <i>et al.</i> , 2008b; PERSON <i>et al.</i> , 2010; MISRHA <i>et al.</i> , 2004; HOWARD <i>et al.</i> , 2011).
<i>Penicillium expansum</i>	- Fungo filamentoso pertencente à classe dos Eufomicetos (MURRAY <i>et al.</i> , 2006).	- Infecções oculares, como queratite micótica (GUGNANI <i>et al.</i> , 1978; SINGH <i>et al.</i> , 2009).	- Tiabendazol (BARALDI <i>et al.</i> , 2003).

Assim, o arsenal terapêutico disponível para o tratamento dessas infecções fúngicas é ainda limitado e podem não apresentar uma boa efetividade, pois os fármacos produzem recorrência ou causam resistência, além de serem tóxicos. Por isso, novos antifúngicos mais eficazes e seguros, são constantemente investigados (BERGOLD & GEORGIADIS, 2004; FENNER *et al.* 2006), sendo que as espécies vegetais podem representar fontes importantes na descoberta desses novos fármacos (FENNER *et al.*, 2006; RUIZ-CAMPS & CUENCA-ESTRELLA, 2009). Muitos trabalhos têm avaliado produtos oriundos de espécies vegetais contra as espécies descritas *C. albicans*, *C. famata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *A. niger*, e têm demonstrado resultados promissores quanto à atividade antifúngica. (CALVACANTI *et al.*, 2012; SILVA, 2004; SANTOS, 2015a; FONSECA & BOTELHO, 2010; TEODORO, 2011; PAWAR & THAKER, 2006; FRIAS & KOZUSNY-ANDREANI, 2009; MARIATH *et al.*, 2006).

4 METODOLOGIA

4.1 Material vegetal

4.1.1 Coleta e identificação taxonômica

As 12 plantas utilizadas no estudo são nativas do Cerrado e obtidas na região de Diamantina (exceto *Alternanthera* sp.), localizado na região do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. Os espécimes foram coletados, georreferenciados e as exsiccatas foram depositadas no Herbário Dendrológico Jeanine Felfili (HDJF) e DIAM da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). No quadro 3, estão descritos os dados referentes à coleta, identificação, depósito do material vegetal, nome popular e uso popular das espécies vegetais e na figura 1 estão as imagens referentes às exsiccatas de cada espécie de planta utilizada no estudo.

Quadro 3: Dados referentes à coleta, identificação, depósito das exsicatas, nome popular e uso popular das espécies vegetais.

Espécie	Família	Data de coleta do material vegetal	Local da coleta	Número de depósito das exsicatas	Nome popular	Uso popular
<i>Acosmium dasycarpum</i> (Vogel) Yakovlev	Fabaceae	12/10/2010	Sítio Gangorras em Planalto de Minas, Minas Gerais, Brasil, 17° 39'00"S; 43° 20'00"W.	HDJF 1147	- Perobinha do campo, chapada, pau-paratudo, unha d'anta e genciana (LORENZI, 1998).	-Casca da raiz utilizadas como tranquilizante, hipotensor, antineoplásico, antisifílico, antireumático e no tratamento de afecções cutâneas, além da ação diurética atribuída às suas folhas (TREVISAN, 2002; RODRIGUES, 1996 apud SOUSA-JUNIOR <i>et al.</i> , 2009).

<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd.ex.Mart.)	Arecaceae	07/07/2014	Distrito de Mendanha, Diamantina, Minas Gerais, Brasil.	HDJF 2709	- Bocaiúva e macaúba (LORENZI, 2006; COIMBRA & JORGE, 2011; IHA <i>et al.</i> , 2014; HIANE <i>et al.</i> , 2006). -Coco catarro, macabira e mocajuba (HIANE <i>et al.</i> , 2006).	-Tratamento de artrite, problemas dos ossos e nervo (SARAIVA <i>et al.</i> , 2015). -Indígenas utilizava a polpa para dores de cabeça, nevralgias, purgativa e afecções das vias respiratórias (ALMEIDA <i>et al.</i> , 1998).
<i>Alternanthera sp.</i> Forssk. *	Amaranthaceae	07/05/2013	Córrego do Maneco, Simonésia, Minas Gerais, Brasil, 19° 57'41"S; 42°00'23"W.	HDJF 2423	(*)	(*)
<i>Banisteriopsis oxyclada</i> (A. Juss.) B. Gates	Malpighiaceae	12/10/2010	Sítio Gangorras em Planalto de Minas, Minas Gerais, Brasil, 17° 39'00"S; 43° 20'00"W.	HDJF 1180	-Cipó-folha-de-prata ou cipó-prata (GATES, 1982 apud ANESE <i>et al.</i> , 2016).	-Anestésico e analgésico (SOUZA & GRAEL, 2014).
<i>Campomanesia cf. adamantium</i> (Cambess.) O. Berg.	Myrtaceae	23/05/2014	Campus JK da UFVJM, Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 18° 12' 19.61"S; 43° 34' 40.63"W.	HDJF 3086	-Gabirola, guavira e guabiroba (VALLILO <i>et al.</i> , 2006; RAMOS <i>et al.</i> , 2007; LORENZI <i>et al.</i> , 2006).	-Disenteria, problemas do estômago, febre, anti- séptica das vias urinárias, anti- inflamatória, gripe e

						recomposição da flora intestinal (KATAOKA <i>et al.</i> , 2008; RAMOS <i>et al.</i> , 2007).
<i>Cissampelos ovalifolia</i> DC.	Menispermaceae	08/102009	Campus JK da UFVJM, Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 18° 12' 17.21"S; 43° 34' 12.54"W.	DIAM 2084	-Orelha-de-onça (RODRIGUES & CARVALHO, 2001).	- Decocto ou infuso da raiz sem casca utilizado como diurético, sudorífico, antifebril, tônico e narcótico (RODRIGUES & CARVALHO, 2001; GIORGETTI <i>et al.</i> , 2011).
<i>Eremanthus erythropappus</i> (DC.) MacLeish	Asteraceae	27/05/2010	Campus JK da UFVJM, Área em recuperação do antigo aterro sanitário de Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 12° 12' 20" S; 43° 34' 34" 10" W.	HDJF 3988	-Candeia (NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2007). - Candeinha (BOTREL <i>et al.</i> , 2006).	-Uso popular como anti-inflamatório, antibacteriano, adstringente, agente cicatrizante e no tratamento de úlceras e infecções (ROSAL <i>et al.</i> , 2007; MESSIAS <i>et al.</i> ,

						2015; SILVÉRIO <i>et al.</i> , 2008).
<i>Eryngium horridum</i> Malme	Apiaceae	16/07/2014	Parque Estadual do Biribiri (entrada próximo ao campus JK, UFVJM), Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 18° 12' 17.58"S; 43° 34' 59.51"W.	HDJF 2813	-Caraguatá (SIMÕES <i>et al.</i> , 1999)	-Partes aéreas utilizadas no tratamento de infecções da boca e garganta (PIO CORRÊA, 1978 apud SIMÕES <i>et al.</i> , 1999).
<i>Palicourea rigida</i> Kunth	Rubiaceae	03/05/2012	Campus JK da UFVJM, Área em recuperação do antigo aterro sanitário de Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 12° 12' 20" S; 43° 34' 34' 10" W.	HDJF39893	-Congonha-dourada (PEREIRA <i>et al.</i> , 2007a). - Douradão, gritadeira (SOUZA <i>et al.</i> , 2013). - Douradinha (ALVES <i>et al.</i> , 2011).	-Tratamento de infecções fúngicas, tosse e dores de estômago (ROSA <i>et al.</i> , 2016). - Decocto e infuso da casca raiz, caule e folhas é utilizado como depurativo, para tratamento das doenças renais e nas infecções do aparelho feminino (RODRIGUES &

						CARVALHO, 2007). - Folhas e casca da raiz podem ser utilizadas para tratamento da hepatite e malária (SOUZA <i>et al.</i> , 2013). - Infuso das folhas utilizado pelos indígenas como anti-inflamatório (HIRSCHMANN & ARIAS, 1990).
<i>Peixotoa tomentosa</i> A. Juss.	Malpighiaceae	12/10/2010	Sítio Gangorras em Planalto de Minas, Minas Gerais, Brasil, 17° 39'00"S; 43° 20'00"W.	HDJF 1169	- Braço-forte (SOUZA & GRAEL, 2014).	- Cefaléia e dores na região lombar (efeitos analgésicos) (SOUZA & GRAEL, 2014).
<i>Senna rugosa</i> (G. Don) H.S.Irwin & Barneby	Fabaceae	07/05/2009	Campus JK da UFVJM, Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 18° 12' 12.92"S; 43° 34' 12.31"W.	DIAM 1624	- Amarelinho, acacu ou unha-de-boi (EBERHARDT, 2012). - Raiz-preta (RODRIGUES & CARVALHO, 2007;	- Uso popular como vermífugo e antídoto contra mordida de cobra (RODRIGUES & CARVALHO, 2007). - Gripes e rouquidão

					EBERHARDT, 2012).	(VILA VERDE <i>et al.</i> , 2003).
<i>Trimezia cf. cathartica</i> (Klatt) Niederl.	Iridaceae	06/03/2014	Distrito de Planalto de Minas (região da Chapada), Diamantina, Minas Gerais, Brasil, 17° 39' 0.22"S; 43° 19' 27.3"W	HDJF 3225	(**)	(**)

(*) Planta ainda em processo de identificação da espécie; (**) Não foram encontrados estudos para esta espécie.

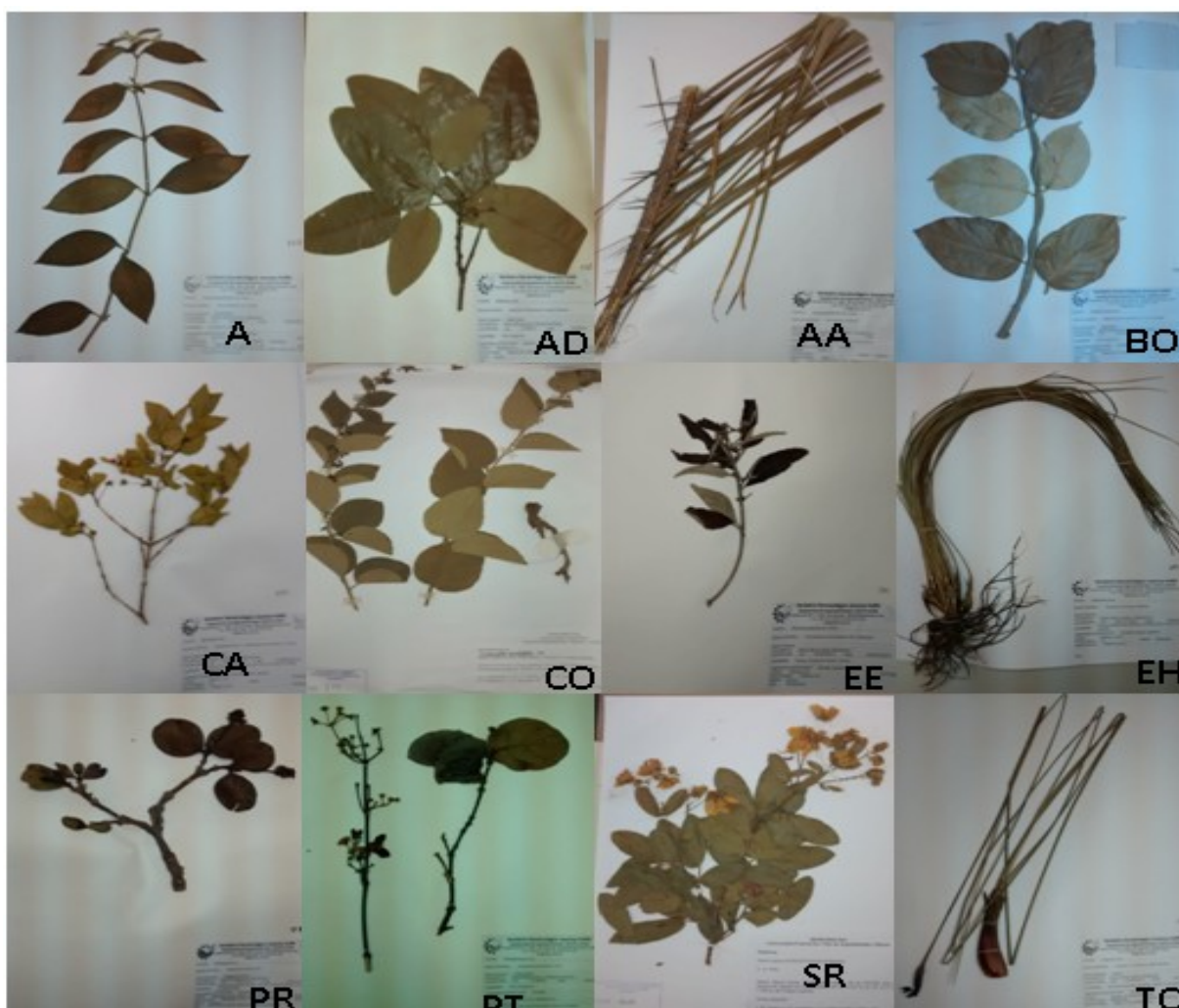


Figura 1: Imagens das exsicatas das plantas utilizadas nos experimentos. A – *Alternanthera* sp.; AD – *Acosmium dasycarpum*; AA – *Acrocomia aculeata*; BO – *Banisteriopsis oxyclada*; CA – *Campomanesia adamantium*; CO – *Cissampelos ovalifolia*; EE – *Eremanthus erythropappus*; EH – *Eryngium horridum*; PR – *Palicourea rígida*; PT – *Peixotoa tomentosa*; SR – *Senna rugosa* e; TC – *Trimezia cathartica*.

As espécies vegetais não constam na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (BRASIL, 2014a) e carecem de pesquisas com relação às atividades propostas, justificando o seu estudo. No Anexo A constam as licenças para permissão de coleta e transporte do material botânico utilizado nesse estudo.

Estas espécies vegetais foram selecionadas devido disponibilidade de material vegetal para a confecção de extratos, sua ocorrência na região e ausência e/ou escassez de estudos referentes as atividades avaliadas.

4.1.2 Preparo dos extratos

A preparação dos extratos foi realizada no Laboratório do Núcleo de Estudos de Produtos Naturais (NEPRONAT) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). Os caules, folhas, raízes ou partes aéreas das plantas foram secos em estufa de ar circulante (Biopar[®], modelo S480AT) a 40°C, até peso constante (Quadro 4). Após esse período, o material foi pulverizado em moinho de facas (Marconi[®], modelo MA580). O pó obtido foi armazenado em sacos plásticos, a temperatura ambiente, em local fresco até o momento do preparo dos extratos.

Quadro 4: Espécies, suas respectivas famílias e partes utilizadas no preparo dos extratos.

Espécie	Família	Parte utilizada
<i>Acosmium dasycarpum</i> (Vogel) Yakovlev	Fabaceae	Folhas
<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd.ex.Mart.)	Arecaceae	Folhas
<i>Alternanthera</i> sp. Forssk. *	Amaranthaceae	Folhas
<i>Banisteriopsis oxyclada</i> (A. Juss.) B. Gates	Malpighiaceae	Folhas
<i>Campomanesia cf. adamantium</i> (Cambess.) O. Berg.	Myrtaceae	Folhas
<i>Cissampelos ovalifolia</i> DC.	Menispermaceae	Folhas e Raiz
<i>Eremanthus erythropappus</i> (DC.) MacLeish	Asteraceae	Folhas
<i>Eryngium horridum</i> Malme	Apiaceae	Partes aéreas
<i>Palicourea rigida</i> Kunth	Rubiaceae	Folhas
<i>Peixotoa tomentosa</i> A. Juss.	Malpighiaceae	Folhas
<i>Senna rugosa</i> (G. Don) H.S.Irwin & Barneby	Fabaceae	Folhas
<i>Trimezia cf. cathartica</i> (Klatt) Niederl.	Iridaceae	Planta toda (raiz, folhas e rizoma)

(*) Planta ainda em processo de identificação da espécie.

Para a obtenção dos extratos etanólicos, o material pulverizado foi submetido à extração por maceração, durante uma semana, na proporção de 1:10, ou seja, 100 g de pó da

planta para 1 L de etanol 96 °GL (Dinâmica®). Após esse período, os extratos foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo (Fisaton®, modelo 801), entre 40 e 45 °C, sob pressão reduzida.

Para a secagem final à temperatura ambiente, os extratos etanólicos obtidos foram transferidos para frascos de vidro âmbar previamente tarados e alocados em dessecador, sob vácuo, contendo sílica gel.

4.2 Análise Fitoquímica Preliminar

As análises fitoquímicas preliminares foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Farmácia da UFVJM, com objetivo de identificar as principais classes de metabólitos secundários nas partes das plantas utilizadas neste estudo. Foi realizada por meio de reações cromogênicas, reações de precipitação e análises em cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), conforme descrito no Quadro 5, de acordo com a metodologia proposta por SIMÕES *et al.* (2007) e pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2016). A seguir estão descritos os procedimentos utilizados para cada uma das classes químicas investigadas.

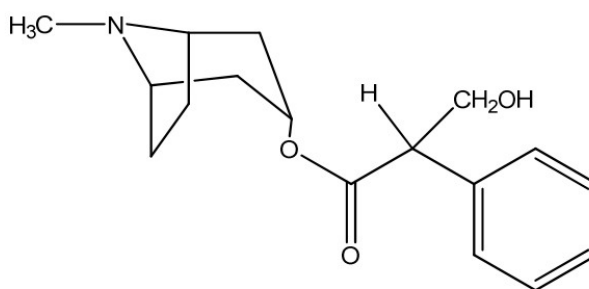
Quadro 5: Relação dos testes aplicados para a identificação de prováveis classes químicas nas plantas avaliadas.

Classe química investigada	Reações químicas
Alcalóides	Reagentes gerais para alcalóides (Bouchardat, Dragendorf, Mayer e Bertrand).
Antraquinonas	Reação de Borntrager direta.
Cumarinas	Cromatografia em camada delgada comparativa/agente revelador: KOH e radiação UV
Esteróides/Triterpenos (metabólitos de natureza terpênica)	Reação de Libermann e Reação de Salkowisk
Flavonóides	Reação de Shinoda (Cianidina); Reação com Hidróxido Alcalino e Reação com Cloreto férrico.
Saponinas	Observação da propriedade Afrogênica
Taninos	Reação com Gelatina; Reação com Acetato Neutro de Chumbo; Reação com Acetato Ácido de Chumbo e Reação com Cloreto Férrico.

4.2.1 Teste para alcalóides

Os alcalóides apresentam várias propriedades farmacológicas e de caráter básico. São compostos orgânicos cíclicos, possuindo um ou mais átomos de nitrogênios em estado de oxidação negativo pertencente ao anel heterocíclico – Figura 2. São encontrados mais comumente nos vegetais, podendo estar presente na sua forma combinada, com ácidos orgânicos, ou na forma livre. Nessa forma, apresentam insolubilidade em meio aquoso e solubilidade em solventes orgânicos; e na forma de sal a solubilidade é inversa (HENRIQUES *et al.*, 2000).

Figura 2:
da molécula de
alcalóide.
(2004).



Estrutura química
atropina, um
ChemDraw Ultra

Na pesquisa de alcalóides foram realizados testes de precipitação empregando reagentes específicos (como o Dragendorff, Bouchardat, Mayer e Bertrand) utilizando extratos tratados com ácido (pesquisa direta) e base (pesquisa confirmatória). Essas reações são possíveis, devido à existência de um nitrogênio na estrutura dos alcalóides, que lhes confere uma alcalinidade e lhes permite reagir com diversos compostos, formando precipitados complexos (Quadro 6). Assim, os métodos de detecção deste metabólito são precedidos de um tratamento do extrato baseado na solubilidade dos alcalóides (SIMÕES *et al.*, 2007; SBFgnosia, 2016).

Quadro 6: Reagentes gerais para a pesquisa de alcalóides, composição e cor do precipitado formado quando reagem com alcalóides.

Reagentes Gerais de Alcalóides	Composição	Cor do precipitado
Dragendorff	Iodo bismutato de potássio	Alaranjado
Bouchardat	Iodo-iodeto de potássio	Marrom
Mayer	Iodo mercurato de potássio	Branco
Bertrand	Ácido sílico-túngstico	Branco

Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2016).

Para a pesquisa de sais de alcalóides, 200 mg do extrato bruto foram dissolvidos em 20 mL de uma solução de ácido sulfúrico 1%. A mistura foi submetida a aquecimento em banho-maria por 5 minutos e em seguida filtrada. O extrato ácido obtido foi dividido, sendo que metade foi utilizada para a pesquisa direta de alcalóides e a outra metade, para a pesquisa confirmatória.

Para a pesquisa direta o extrato foi dividido igualmente em cinco tubos de ensaio, Em seguida, duas gotas de cada reagente: Reagente de Mayer, Reagente de Dragendorff, Reagente de Bouchardat e Reagente de Bertrand foram adicionados em quatro diferentes tubos de ensaios. O quinto tubo foi considerado o branco da reação, não sendo adicionado nenhum reagente.

Para a pesquisa confirmatória a outra metade do extrato foi tratada com gotas de solução de hidróxido de amônio a 10% até que o meio se tornasse básico, em pH aproximadamente 9,0. O extrato básico foi submetido à partição, sendo transferido para um funil de separação e adicionado 7 mL de clorofórmio. Após 10 minutos, a fase orgânica e aquosa foi separada, descartando-se a fase aquosa e transferindo a fase orgânica para um béquer para a completa evaporação do solvente em banho-maria. O resíduo obtido foi dissolvido em 10 mL de solução de ácido sulfúrico a 1% e distribuído igualmente em 5 tubos de ensaio. Duas gotas dos reagentes citados anteriormente foram adicionadas em quatro tubos de ensaios diferentes. O quinto tubo foi considerado o branco da reação, não sendo adicionado nenhum reagente. O resultado foi considerado positivo, quando todas as reações da pesquisa direta e no mínimo três reações da pesquisa confirmatória foram positivas, determinadas por meio da mudança da coloração e/ou turvação e/ou formação de precipitado das soluções dos extratos, conforme descrito no quadro 6.

4.2.2 Teste para Antraquinonas

Antraquinonas são substâncias fenólicas derivadas da dicetona do antraceno. Sua característica principal é a presença de dois grupos carboxílicos que formam um sistema conjugado com pelo menos duas duplas ligações C-C (Figura 3). As antraquinonas podem estar livres (agliconas ou geninas) ou ligadas a glicídios (na forma de glicosídeos antraquinônicos ou antracenosídeos). Nesta última forma, apresentam-se como cristais amarelos, de sabor amargo, solúveis em solventes polares e insolúveis em solventes orgânicos apolares. Quando dissolvidos em meio básico formam soluções laranja-avermelhadas (Reação de Bornträger Direta) (SIMÕES *et al.*, 2007).

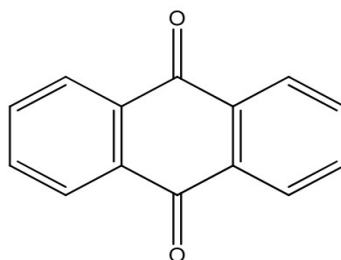


Figura 3: Estrutura química
ChemDraw Ultra (2004).

de uma antraquinona.

Dessa forma, foi realizada a reação de Borntrager direta para a pesquisa de antraquinonas nos extratos. Para tal, foram dissolvidos 50 mg do extrato bruto em 5 mL de éter etílico. Essa solução foi filtrada e ao extrato etéreo obtido foi adicionado cerca de 1 mL de solução aquosa de NH_4OH a 10% com agitação. A preparação foi avaliada, sendo o aparecimento de coloração rósea ou avermelhada indicativa da presença de antraquinonas.

4.2.3 Teste para Cumarinas

As cumarinas estruturalmente são lactonas do ácido *o*-hidroxi-cinâmico (2H-1-benzopirran-2-onas) - Figura 4, sendo o representante mais simples a 1,2-benzopirona (SIMÕES *et al.*, 2007; SBFgnosia, 2016). Quando puras são fluorescentes, mas quando tratadas com compostos alcalinos forma-se o ácido cis-*o*-hidroxicinâmico que submetido à radiação ultravioleta emite fluorescência azul (SBFgnosia, 2016).

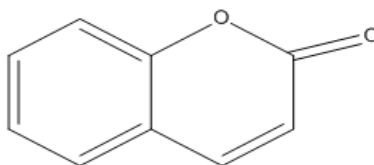


Figura 4: Estrutura química básica da Cumarina. ChemDraw Ultra (2004).

A identificação deste metabólito é baseada no seu espectro ultravioleta característico, o qual é fortemente influenciado pela natureza e posição dos grupos substituintes. Dessa forma,

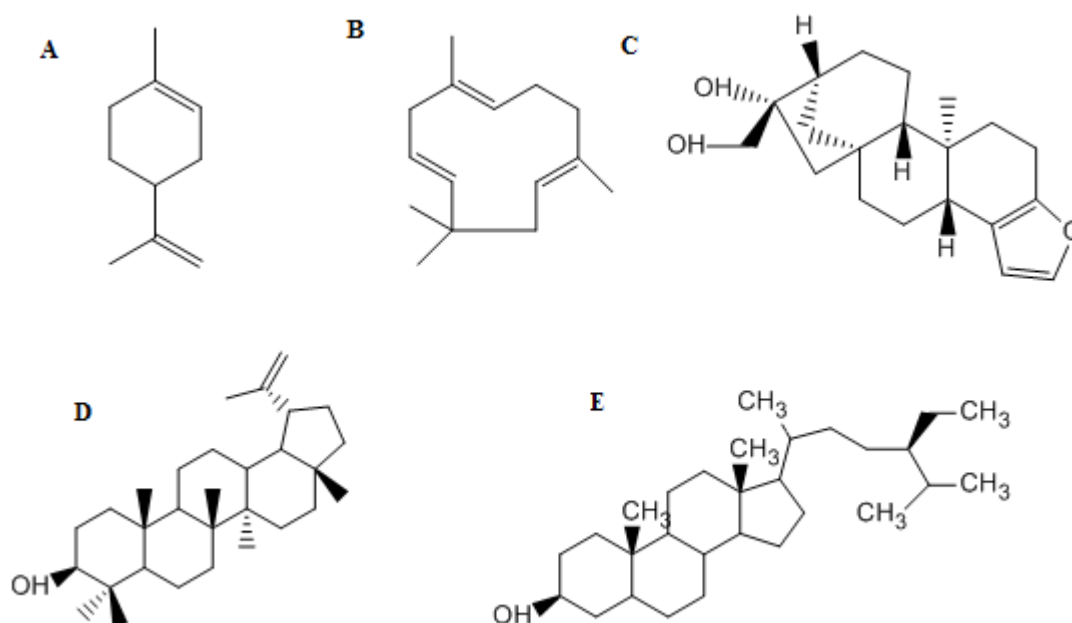
as cumarinas são facilmente visualizadas por cromatografia em camada delgada e as manchas do cromatograma sob luz U.V apresentam cores diversas como azul, verde, amarelo e podem ser realçadas pelo vapor de amônia (ROMAN-JÚNIOR, 2005).

Desta forma, a presença de cumarinas foi avaliada nos extratos por meio de Cromatografia Comparativa em Camada Delgada (CCDC) com KOH e radiação UV, como agentes reveladores. Para sua realização foram utilizadas cromatoplasas de sílica gel 60 (Whatman®) 20 x 20 cm, espessura 250 µm, em cuba saturada, com migração ascendente do eluente. Para todos os extratos o eluente utilizado foi etanol e acetato de etila na proporção 7:3. Os extratos a serem analisados foram aplicados na placa com auxílio de um capilar, e introduzidos na cuba saturada. Após a completa eluição do extrato, a placa foi retirada e revelada com uma solução de KOH a 10%. Depois de seca, a placa foi colocada em uma câmara escura e observada à luz UV (254nm) para a verificação do possível aparecimento de fluorescência azul-esverdeada que é indicativo da presença de cumarinas.

4.2.4 Testes para metabólitos de natureza terpênica (Esteróides e Triterpenos)

Os terpenóides formam uma grande família de produtos naturais, derivada de unidades isoprênicas. Dependendo da quantidade destas unidades, os compostos terpênicos podem ser classificados como monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀), triterpenos (C₃₀) - Figura 5,-, entre outros. Os esteróides (C₂₇) são formados por unidades de isopreno (Figura 5), podendo ser encontrados como álcool livre, esterificados a ácidos graxos ou como glicosídeos (saponinas) (DEWICK, 2002; SIMÕES *et al.*, 2007).

Figura 5: Estrutura química dos terpenóides e esteróides. A - Monoterpeno, limoneno; B - Sesquiterpeno, α -humuleno; C - Diterpeno, cafestol; D - Triterpeno, lupeol; E - Esteróide, β -sitosterol. ChemDraw Ultra (2004).



Nesta classe de metabólito a presença da dupla ligação em um dos anéis do núcleo esteroidal ou triterpênico faz com que haja o desenvolvimento de coloração quando estas substâncias entram em contato com ácidos inorgânicos concentrados. Dessa maneira, as reações de identificação destes metabólitos são baseadas nestas propriedades (FUJIWARA, 2012).

Para a identificação desta classe de metabólito a reação de Liebermann-Burchard é o teste mais utilizado. Nesta reação a amostra é tratada com ácido acético e ácido sulfúrico e posteriormente ocorre uma desidratação seguida de oxidação dos anéis como os anéis ciclopentanoperidrofenantreno dos esteróides, o que leva a formação de um esteróide aromático e aparecimento de um anel colorido se há presença deste composto (BURKE, 1974; XIONG *et al.*, 2007). A reação de Salkowisk também pode ser utilizada para a pesquisa de esteróides/triterpenóides e o seu mecanismo é semelhante ao da reação de Liebermann-Burchard (XIONG *et al.*, 2007).

4.2.4.1 Reação de Libermann-Burchard

Na realização da reação de Liebermann-Burchard foram adicionados 2,5mL de clorofórmio em um tubo de ensaio e 5 mg de extrato bruto. Após evaporação, o resíduo foi suspenso em 3mL de ácido acético glacial, acrescentando-se em seguida, duas gotas de cloreto férrico e 2mL de ácido sulfúrico. O aparecimento de anel de coloração azul ou violeta na zona de contato entre as duas camadas caracteriza resultado positivo para núcleo esteroidal, enquanto que anel de coloração pardo-avermelhada ou verde indica a presença de núcleo triterpênico.

4.2.4.2 Reação de Salkowisk

Na reação de Salkowisk foram adicionados 2,5 mL de clorofórmio em um tubo de ensaio e acrescentou-se 5 mg de extrato bruto. Após evaporação do solvente foram adicionados 2 mL de ácido sulfúrico concentrado sem agitação e observada a coloração. O aparecimento de anel de coloração vermelha ou pardo-avermelhada caracteriza resultado positivo para núcleo triterpênico, enquanto que anel de coloração rósea a violeta indica presença de núcleo esteroidal.

4.2.5 Teste para Flavonóides

Os flavonóides são compostos aromáticos derivados de benzo- γ -pironas (CROFT, 1998; LOPES *et al.*, 2000). Sua estrutura básica consiste em um esqueleto de difenil propano (C₆C₃C₆) com dois anéis benzênicos (A e B) ligados a um anel pirano (C) - Figura 6. Eles podem ocorrer na forma de agliconas, glicosídeos ou compondo outras estruturas que contenham flavonóides (flavolignanas). No entanto, a forma em que ocorre frequentemente é como glicosídeos. (BEHLING *et al.*, 2008). Os flavonóides são divididos em classes, sendo as principais as flavanonas, os flavonóis, as antocianidinas, as isoflavonas, as leucoantocianidinas, as proantocianidinas, as auronas e as chalconas (BRAVO, 1998).

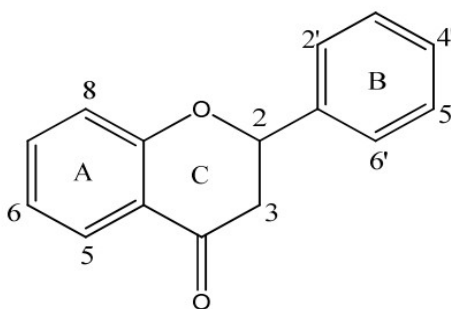


Figura 6: Estrutura
flavonóide. ChemDraw Ultra (2004).

química básica de

Na pesquisa de flavonóides a reação de Cianidina (Shinoda) é a mais utilizada. Esta se baseia na redução ocasionada pelo magnésio na presença do ácido, que leva o flavonóide a adquirir uma coloração avermelhada. Esta reação ocorre somente em compostos de cor amarela, tais como as flavonas, flavonóis, flavanonas e diidroflavonóis (NASCIMENTO & FREITAS, 2011; REICHERT, 2011; MARTÍNEZ, 2005).

As reações com hidróxidos alcalinos e cloreto férrico também são muito utilizadas para a identificação da presença de flavonoides em extratos. Nestas reações os grupos fenólicos reagem com substâncias alcalinas (NaOH), formando fenóxidos que por sofrerem oxidação pelo ar, adquirem a cor amarela. Estes fenóis complexam-se, através de hidroxilas vicinais ou através de hidroxila e carbonila espacialmente próximas, com Fe^{+3} na solução o que gera coloração. Nesta reação as flavonas adquirem uma cor verde-clara, flavonóis, flavonóis e flavanonas de verde-escuro e chalconas de amarelo (SOFIATI, 2009; PEDROSO *et al.*, 2009; NASCIMENTO & FREITAS, 2011). Ambas as reações, apesar de não serem específicas para a pesquisa de flavonoides, são importantes reações complementares (PEDROSO *et al.*, 2009).

Para a realização destas reações foram dissolvidos 200 mg do extrato bruto em 20 mL de uma solução metanol-água na proporção 4:1. Essa foi aquecida em banho-maria por 10 minutos e após o resfriamento foi submetida à filtração e então utilizada para a realização das reações que estão descritas a seguir. Parte deste preparado foi também utilizada para o teste de taninos.

Para controle da reação foi adicionado a um tubo de ensaio uma mistura de extrato e água, na proporção de 1:10, para observações de possíveis mudanças de cor nos meios reacionais de detecção de flavonóides.

4.2.5.1 Reação de Shinoda (Cianidina)

Para a Reação de Shinoda (Cianidina) foram adicionados 5 mL do preparado indicado acima a um tubo de ensaio, 1mL de ácido clorídrico concentrado e de dois a três fragmentos de magnésio metálico.

Após cerca de 20 minutos foi observada a solução para verificar a alteração ou não de cor, se rósea ou vermelha indicativa de flavonóis, se violeta de flavanonas ou alaranjado de flavonas; enquanto Isoflavonas e chalconas não produzem cor.

4.2.5.2 Reação com Hidróxidos Alcalinos

Para a Reação com Hidróxidos Alcalinos, foi diluído 0,5 mL do preparado em 9,5 mL de água destilada, em um tubo de ensaio. A solução foi subdividida em dois tubos de ensaio com 5 mL cada, um deles constituindo o branco da reação. Em um dos tubos foram adicionadas 15 gotas da solução de hidróxido de sódio 1 M e observado a solução quanto a mudança de coloração. O aparecimento de coloração amarela na solução é indicativo da presença de flavonóides com hidroxilas fenólicas livres.

4.2.5.3 Reação com Cloreto Férrico

Para a Reação com Cloreto Férrico, em um tubo de ensaio foram misturados 1 mL do preparado em 9mL de água destilada. Em seguida, 5 mL da solução obtida foi transferida para outro tubo de ensaio e adicionado lentamente uma gota de cloreto férrico a 2%. O aparecimento de coloração pode ser observado, sendo a formação de coloração verde claro,

verde-escuro ou amarelo, indicativa da presença de flavonas, flavonóis/flavanonas ou chalconas, respectivamente.

4.2.6 Teste para Saponinas

Saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos (especialmente triterpenos). Sua estrutura possui uma parte lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra hidrofílica (açúcares) - Figura 7,- que determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e sua ação detergente e emulsificante (SCHENKEL *et al.*, 2001; SBFgnosia, 2016). Além disso, o seu caráter anfílico lhe permite formar complexos com esteróis de membrana o que um fator responsável por suas diversas ações biológicas (FRANCIS *et al.*, 2002).

Dessa forma, a indicação de presença deste metabólito em uma amostra vegetal pode ser realizada com base na ação tensoativa de seus glicosídeos e consequente formação de espuma abundante e persistente em solução aquosa (SBFgnosia, 2016; GURIB-FAKIM, 2006).

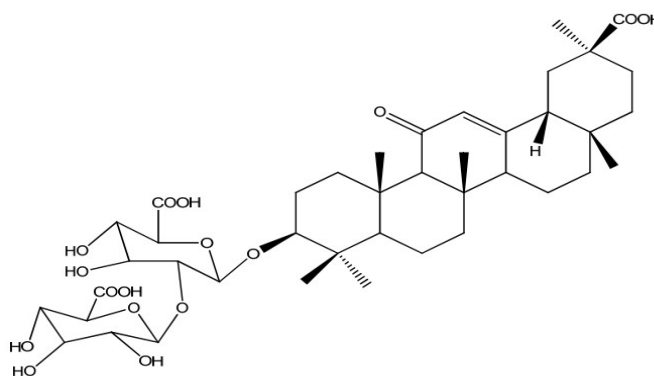


Figura 7: Estrutura química da saponina, glicirrizina. ChemDraw Ultra (2004).

Assim, foi realizada a observação da propriedade afrogênica para a pesquisa de saponinas. Foram pesados 250 mg do extrato bruto e adicionados 20 mL de água destilada em um béquer, seguida de fervura por cinco minutos. Após o resfriamento, 5 mL desta

preparação foi adicionada a um tubo de ensaio e agitada vigorosamente por 15 segundos. Após repouso por 15 minutos, esta foi observada e formação e permanência de abundante anel de espuma indicando a presença de saponinas.

4.2.7 Teste para Taninos

Os taninos são compostos fenólicos com peso molecular entre 500 a 3000 Dalton, podendo ser solúveis em água (MONTEIRO *et al.*, 2005; SIMÕES *et al.*, 2007). Podem ser classificados em taninos hidrolisáveis e condensados (Figura 8). Os taninos hidrolisáveis são compostos por várias moléculas de ácidos fenólicos, como o gálico e seus derivados e recebem este nome devido as suas ligações ésteres com polióis serem passíveis de sofrer hidrólise por substâncias ácidas ou enzimas. Em solução apresentam coloração azul com cloreto férrico. Já os taninos condensados possuem moléculas mais resistentes à fragmentação e possuem uma estrutura do flavan-3-ol, como a catequina, ou do flavan-3,4-diol, da leucocianidina. Em solução os taninos condensados desenvolvem coloração verde com cloreto férrico (SBFgnosia, 2016).

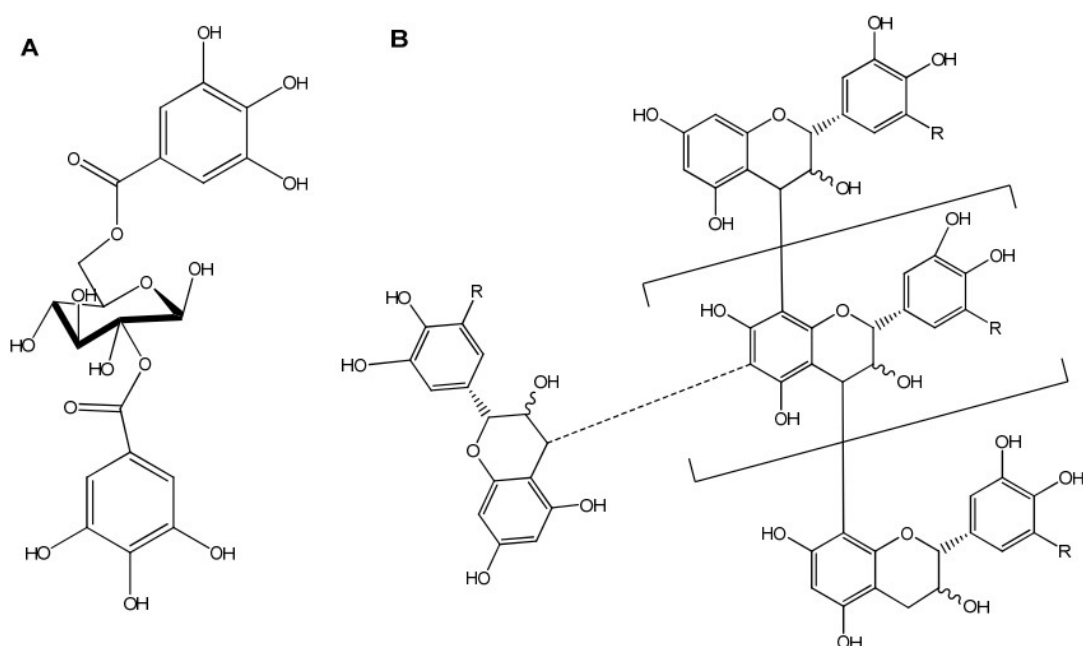


Figura 8: Estrutura química dos taninos. A – Tanino hidrolisável; B – Tanino condensado. ChemDraw Ultra (2004).

Para a identificação de taninos vegetais podem ser utilizados métodos colorimétricos e de precipitação de metais e/ou proteínas (MONTEIRO *et al.*, 2005). Entretanto, devido a sua capacidade de formar complexos insolúveis em água com proteínas o método mais comumente utilizado para detecção de taninos é a reação com solução de gelatina, que promove a formação de precipitado esbranquiçado. Os testes colorimétricos que utilizam o cloreto férrico e acetato ácido e neutro de chumbo baseiam-se na complexação de taninos com sais destes metais pesados, com desenvolvimento de cor azul ou verde ou formação de precipitado, respectivamente (COSTA, 2012; SIMÕES *et al.*, 2007) .

Assim, para a pesquisa de taninos nos extratos vegetais foram realizadas as reações de Gelatina, de Acetato de Chumbo Ácido e Neutro, e de Cloreto Férrico e foi feita uma solução na proporção de 1:10 do preparado (obtido no item 4.2.2) e água destilada, para controle.

4.2.7.1 Reação com Gelatina

Na Reação com Gelatina, foram adicionados 2 mL da solução contendo o extrato (obtido no item 4.2.5) em um tubo de ensaio, duas gotas de ácido clorídrico a 10% e três gotas de uma solução de gelatina a 2,5%. A formação de precipitado ou turvação é indicativa de reação positiva para a presença de taninos.

4.2.7.2 Reação com Acetato Neutro de Chumbo

Na Reação com Acetato Neutro de Chumbo, a 2 mL da solução de extrato foram adicionados 10 gotas de solução aquosa de acetato neutro de chumbo a 10%, observando-se as características da preparação, sendo a formação de turvação ou precipitado indicativa da presença de taninos no extrato.

4.2.7.3 Reação com Acetato Ácido de Chumbo

Na Reação com Acetato Ácido de Chumbo, em um tubo de ensaio foram adicionados 3 mL do extrato, 5mL de ácido acético glacial a 10% e 3mL de solução de acetato de chumbo a 10%. Foi observada a preparação, sendo que nesta reação, quando presente, os taninos condensados permanecem dissolvidos e os hidrolisáveis precipitam.

4.2.7.4 Reação com Cloreto Férrico

A Reação com Cloreto Férrico consiste na adição de 5 mL de água destilada em um tubo de ensaio, três gotas de solução aquosa de cloreto férrico a 2% e de 2mL da solução de extrato. A preparação foi observada, sendo a formação de coloração azul indicativa da presença de taninos hidrolisáveis ou gálicos e verde caracterizando os taninos condensados ou catéquicos.

4.3 Ensaios biológicos

Os ensaios para avaliação de citotoxicidade e das atividades antitumoral, leishmanicida, tripanocida, antibacteriana e antifúngica foram realizados nos Laboratórios de Doenças Parasitárias do Departamento de Farmácia e de Biotecnologia do CIPq-Saúde, da UFVJM .

Os extratos brutos etanólicos foram dissolvidos em DMSO, solvente orgânico, na concentração de 0,125%, como previamente padronizado por OLIVEIRA (2016). Posteriormente, foram submetidos a banho de ultrassom (Unique®) por duas horas e armazenados a -20°C até o momento do uso. Os fármacos padrões foram também avaliados quanto à citotoxicidade, empregando as células L929.

4.3.1 Avaliação de Citotoxicidade

4.3.1.1 Linhagem Celular e Manutenção

A linhagem celular utilizada para a avaliação da citotoxicidade dos extratos foi a CLL I NCTC da American Type Culture Collection (ATCC) 929-clone da linhagem L, proveniente de tecido conjuntivo de camundongo, designada L929, a qual foi fornecida pelo Laboratório de Imunopatologia (LIMP) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Para a realização do ensaio de citotoxicidade, criotubos contendo a linhagem L929 criopreservada foram retirados do freezer -80°C e descongelados a temperatura ambiente. A suspensão foi transferida para uma garrafa de cultura estéril de 75 cm^2 (TPP®), contendo 9 mL de meio RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB, Gibco®), 1% de solução estabilizada de penicilina (1000 U/mL)/estreptomicina (10 $\mu\text{g/mL}$) (Sigma®) e 2 mM de L-Glutamina (Sigma®), que foram incubadas em estufa (Ultrafase®, modelo HF 212 UV), a 37°C , em atmosfera umidificada a 95% e com 5% de dióxido de carbono (CO_2), até atingirem 80% de confluência, sendo a verificação realizada diariamente em microscópio óptico invertido (Meddilux, modelo MDL 150 TAI) e a troca do meio realizada quando necessário. Em seguida, as células foram lavadas duas vezes com tampão fosfato salino (PBS) e foi adicionado 1 mL de solução de tripsina-EDTA (Sigma®) para promover a dispersão da monocamada celular. Depois das células desprendidas, a tripsina foi inativada pela adição de 9 mL do meio RPMI suplementado. A suspensão de células foi então concentrada por meio da centrifugação (2500 rpm, 18°C , 10 minutos) em centrífuga (Thermo®, modelo BR4i multifunction), ressuspendidas em meio RPMI suplementado. Dessa suspensão foi retirada uma alíquota de 20 μL e adicionou-se o corante Azul de Tripán 0,4% para contagem em câmara hemacitométrica de Neubauer, sendo a concentração de células ajustada para 1×10^5 células/mL para a realização dos experimentos de citotoxicidade, conforme estabelecido por Oliveira (2016).

4.3.1.2 Ensaio para determinação da citotoxicidade dos extratos

A viabilidade celular após exposição aos extratos foi avaliada pela técnica do MTT que é um ensaio colorimétrico quantitativo sensível e de fácil reprodução. Essa técnica baseia-se na atividade de uma enzima mitocondrial específica, a succinato desidrogenase, que reage com o brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT), reduzindo-o a um composto colorido (formazano) (Figura 9), solúvel em alguns solventes orgânicos. Somente células com atividade mitocondrial preservada podem realizar essa conversão, o que faz a

quantidade de formazano produzida ser diretamente proporcional à viabilidade celular, podendo ser medida em espectrofotômetro de múltiplos poços (leitor de microplaca) (MOSMANN *et al.*, 1983; DUTTA *et al.*, 2005; ARAÚJO *et al.*, 2008).

A avaliação foi realizada utilizando o método descrito por Mosman *et al.* (1983). Em placas de 96 poços (Sarstedt®) foi adicionado 100 µL da suspensão celular na concentração de 1×10^5 células/mL, conforme padronizado por Oliveira (2016). Estas foram incubadas por 24 horas em estufa, a 37°C, em atmosfera com 5% de CO₂ sendo o meio removido cuidadosamente para não retirar as células aderidas. Em seguida, a placa foi tratada com diferentes concentrações dos extratos (7,81; 15,62; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000 µg/mL). Também foi adicionado à placa um controle negativo (células e meio RPMI suplementado), controle positivo de morte celular (CdCl₂ a 360 µg/mL e células), controle de solvente (meio na presença de DMSO a 0,125% v/v e células); controle dos extratos e controle do meio RPMI. Os extratos e os controles utilizados foram testados em triplicata e em três experimentos independentes.

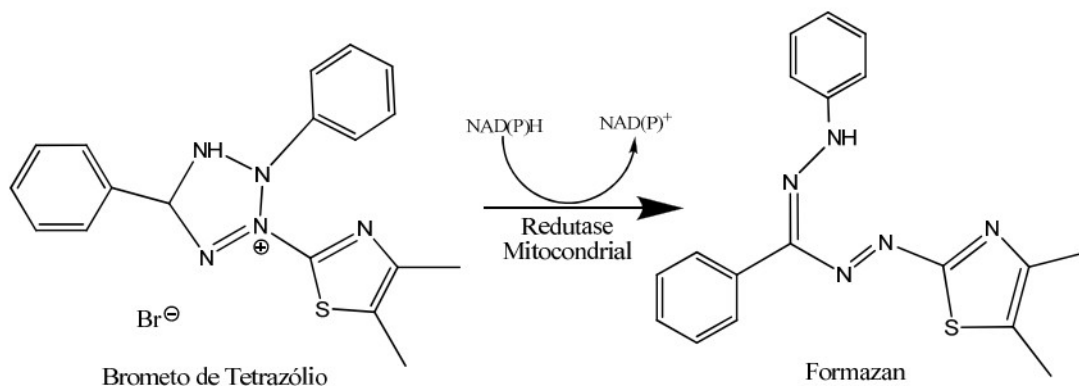


Figura 9: Reação de oxi-redução do 3-[4,5-dimetiltiazol-2il]-2,5- difeniltetrazólio (MTT) em formazano após a conversão pela enzima succinato desidrogenase. ChemDraw Ultra (2004).

Após a adição dos extratos e dos controles a placa foi enrolada em papel alumínio e incubada em estufa de CO₂ (Ultrafase®) nas mesmas condições anteriores, durante 72 horas. Depois desse período, o sobrenadante foi removido e adicionou-se em cada poço 100 µL de solução de MTT 0,5 mg/ml em RMPI suplementado. A placa foi novamente incubada em estufa a 37°C, atmosfera de 5% de CO₂ e 95% de umidade, por 4 horas. Após esse período foi centrifugada (2500 rpm por 15 minutos). O sobrenadante foi removido e adicionou-se a cada poço, 100 µl de DMSO (Vetec®) para solubilização dos cristais de formazano. A placa então

foi submetida à leitura da absorbância em leitor de microplaca (Molecular Devices®) a 540 nm.

4.3.2 Avaliação da Atividade Antitumoral

4.3.2.1 Linhagem Celular e Manutenção

Para a avaliação da atividade antitumoral foram utilizadas as células de adenocarcinoma de mama MDA-MB-231 ATCC® HTB-26TM, derivadas de metástase *in situ*, de tecido epitelial obtida pela primeira vez por meio da efusão pleural de uma paciente em 1973 no M. D. Anderson Câncer Center (CAILLEAU *et al.*, 1974). A linhagem foi doada pelo Laboratório de Cultura Celular do Departamento de Produtos Farmacêuticos da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). A linhagem celular foi expandida e congelada conforme a metodologia descrita no item 4.3.2.1, substituindo o meio RPMI pelo meio DEMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB, Gibco®), 1% de solução estabilizada de penicilina (1000 U/mL)/estreptomicina (10 µg/mL) (Sigma®) e 2 mM de L-Glutamina (Sigma®). A cultura celular foi monitorada diariamente durante todo o período de experimentos.

4.3.2.2 Ensaio para determinação da atividade antitumoral dos extratos

A avaliação da atividade antitumoral dos extratos frente às células MDA-MB-231 foi realizada segundo a técnica do MTT descrita anteriormente no item 4.3.1.2. Foram utilizados 100 µL das células MDA-MB-231 na concentração de $1,5 \times 10^5$ células/mL, conforme padronizada por Oliveira (2016). Estas foram plaqueadas em placas de 96 poços (Sarstedt®) e incubadas em estufa (Ultrafase®), por 24h, a 37° C, em atmosfera de 5% de CO₂ e umidade a 95%. Após esse período, o meio de cultura foi removido vagarosamente e as células foram tratadas com diferentes concentrações dos extratos (7,81; 15,62; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000 µg/mL). Foi utilizado o paclitaxel a 35µg/mL como fármaco padrão, além de controle

negativo (meio de cultura e células), controle do solvente (meio de cultura a 0,125% v/v de DMSO e células), controle dos extratos (concentração de extratos avaliados sem a presença de células) e controle do meio DEMEM (meio na ausência de células). Os extratos e os controles utilizados foram testados em triplicata e em três experimentos independentes.

Após a adição dos extratos e dos controles a placa foi enrolada em papel alumínio e incubada em estufa, nas mesmas condições, durante 72 horas. Depois desse período, os extratos foram removidos e foi adicionado a cada poço 100 µL de MTT 0,5 mg/mL em DEMEM suplementado. A placa foi novamente incubada em estufa de CO₂ a 37 °C por 4 horas e submetida à centrifugação a 2500 rpm, por 15 minutos. Na sequência, o sobrenadante foi removido e adicionado, a cada poço, 100 µl de DMSO (Vetec®) para solubilização dos cristais de formazano. Foi então realizada a leitura da absorbância em leitor de microplaca (®) a 540 nm.

4.3.3 Avaliação da Atividade Tripanocida

4.3.3.1 Cepa e Manutenção

A cepa de *T. cruzi* utilizada no presente estudo foi a Colombiana, isolada de um caso humano na Colômbia (FEDERICI *et al.*, 1964), um modelo de resistência ao benzonidazol, conforme determinado por Filardi & Brener (1987). Essa cepa foi cedida pelo Laboratório de Doenças de Chagas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da UFOP.

As formas epimastigotas da cepa Colombiana foram mantidas criopreservadas em nitrogênio líquido no banco de cepas do Laboratório de Doenças Parasitárias, da UFVJM, em meio LIT contendo 30% de glicerina. Para a execução dos experimentos, as formas epimastigotas foram descongeladas a temperatura ambiente e transferidas para tubos cônicos de 15 mL (Global®). Depois de adicionar 100 µL de meio LIT, os tubos foram incubados em estufa incubadora B.O.D. (demanda bioquímica de Oxigênio; SL 200/364 Solab® Científica), a 26°C, por 24 horas. Após esse tempo, as culturas foram centrifugadas (Termo®, modelo BR4i multifunction) a 3000 rpm, por 15 minutos, a temperatura ambiente, para a eliminação da glicerina utilizada no congelamento. O sobrenadante foi desprezado, o sedimento

ressuspendido em 1 mL de meio LIT e os tubos novamente incubados em estufa B.O.D (Solab[®]) a 26°C.

No início do cultivo, as culturas foram analisadas a cada três dias e depois de estabelecido o seu crescimento foram submetidas a crescimento exponencial para a obtenção de uma quantidade de formas epimastigotas suficiente para realização dos experimentos.

4.3.3.2 Ensaio para determinação da atividade tripanocida dos extratos

Foi empregado o método de MTT descrito por Mosmann *et al.* (1983) para a realização da avaliação da atividade tripanocida. Na fase exponencial de crescimento, uma suspensão de 1×10^6 parasitos/mL foi transferida para um erlenmeyer com 20 mL de LIT q.s.p., na proporção de uma parte de cultura rica para uma de meio LIT, as quais eram observadas diariamente em microscópio óptico (Olympus[®]). Esta foi incubada em estufa B.O.D (Solab[®]), a 26°C durante sete dias para atingir a fase estacionária de crescimento (OLIVEIRA, 2016).

Uma vez atingida esta fase estacionária, os parasitos foram quantificados e 50 µL da suspensão de epimastigotas na concentração de 1×10^7 parasitos/poço foram distribuídos em placas de cultura de 96 poços (Sarstedt[®]) e, em seguida, foi adicionado 50 µL das soluções contendo diferentes concentrações dos extratos (125; 250; 500; 1000 µg/mL). O fármaco padrão, benzonidazol, foi utilizado na concentração de 75 µg/mL. Como controle negativo, foi utilizado meio LIT e parasitas, controles dos extratos (concentração dos extratos sem a presença dos parasitas), controle do solvente (meio LIT com 0,125% de DMSO na presença de parasitas) e controle de esterilidade do meio LIT.

Na sequência, foram incubadas em estufa B.O.D. (Solab[®]), a 26°C, por 72 horas, protegidas da luz. Após esse período, as placas foram centrifugadas a 4000 rpm por 30 minutos em centrífuga (Thermo[®]), o sobrenadante foi removido e foi adicionado 100 µL/poço de uma solução de LIT com MTT a 3,0 mg/mL. As placas foram novamente incubadas em estufa B.O.D., a 26°C, por 4 horas, protegidas da luz. Posteriormente, foi adicionado 100 µL de duodecil sulfato de sódio (SDS) 10%, por poço e após completa

solubilização do formazano foi realizada a medida da absorbância em leitor de microplaca (Molecular Devices®) a 540 nm. O extrato e os controles foram testados em triplicata em três experimentos independentes.

4.3.4 Avaliação da Atividade Leishmanicida

4.3.4.1 Cepas e Manutenção

Foram utilizadas duas cepas de *Leishmania* sp. para a realização da avaliação da atividade leishmanicida: cepa BH46 - *Leishmania (leishmania) infantum* (MHOM/BR/1070/BH46) e a cepa M2269 - *Leishmania (leishmania) amazonensis* (MHOM/BR/73/M2269). A cepa M2269 cedida pelo laboratório de Imunopatologia (LIMP) do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da UFOP e a cepa BH46 pelo Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular (LPCM) da Fundação René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCUZ-MG). As formas promastigotas destas espécies foram mantidas criopreservadas em nitrogênio líquido no banco de cepas do Laboratório de Doenças Parasitárias, da UFVJM, em meio LIT contendo 30% de glicerina.

O descongelamento para a obtenção das formas promastigotas das cepas BH46 e M2269 foi realizado como descrito no item 4.3.3.1.

4.3.4.2 Ensaio para determinação da atividade leishmanicida dos extratos

A avaliação da atividade leishmanicida foi realizada por meio do método de MTT como descrito por Mosmann *et al.* (1983). As formas promastigotas das cepas BH46 e M2269 foram obtidas no início da fase estacionária ao final de sete dias de crescimento e conforme a metodologia descrita no item 4.3.3.2 (OLIVEIRA, 2016).

Na realização dos experimentos foram distribuídos 50 µL da suspensão de promastigotas (BH46 e M2269) na concentração de 1×10^7 parasitos/mL em poços das placas de cultura 96 poços (Sarstedt®) e, em seguida, adicionado 50 µL das diferentes concentrações

dos extratos. A anfotericina B foi utilizada como fármaco padrão na concentração de 50 µg/mL; como controle negativo, foi utilizado meio LIT e parasitas; foi feito controles dos extratos (concentração dos extratos sem a presença dos parasitas); controle do solvente (meio LIT com 0,125% de DMSO na presença de parasitas); e controle de esterilidade do meio LIT. Posteriormente, foi executada a mesma metodologia descrita no item 4.3.3.2.

4.3.5 Avaliação da Atividade Antibacteriana

4.3.5.1 Bactérias e Manutenção

Foram utilizadas quatro espécies de bactérias provenientes da coleção de cultura *American Type Culture Collection* (ATCC, Rochville, MD, USA), que foram cedidas pela Universidade Federal de Minas Gerais: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus mirabilis* (ATCC 25931), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 29313).

As espécies foram criopreservadas em criotubos contendo caldo BHI com 30% de glicerol e mantidas a -20 °C. Para a realização dos ensaios elas foram descongeladas a temperatura ambiente, repicadas em meio BHI sólido (Himedia®), em capela de fluxo laminar (Veco®) e incubadas a 37 °C, por 24 horas em estufa bacteriológica (Solab®, modelo SL 101).

4.3.5.2 Ensaio para determinação atividade antibacteriana dos extratos

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada por meio da técnica de diluição em placas de 96 poços, conforme a metodologia descrita na norma M7-A6 do Manual CLSI (2003) para as bactérias de crescimento aeróbico, com algumas adaptações. Para a avaliação da atividade antibacteriana foi utilizado o corante 7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido – Resazurina (Sigma®). A Resazurina, também conhecida como Alamar Blue, permite uma fácil determinação da função mitocondrial, pois somente células viáveis são capazes de reduzir a Resazurina (cor púrpura) em Resofurina (cor rósea) - Figura 10

(O'BRIEN *et al.*, 2000; RISS *et al.*, 2015). Assim sendo, a observação da coloração azul é indicativo de ausência de crescimento celular, enquanto a observação da coloração rosa, indica a presença de crescimento.

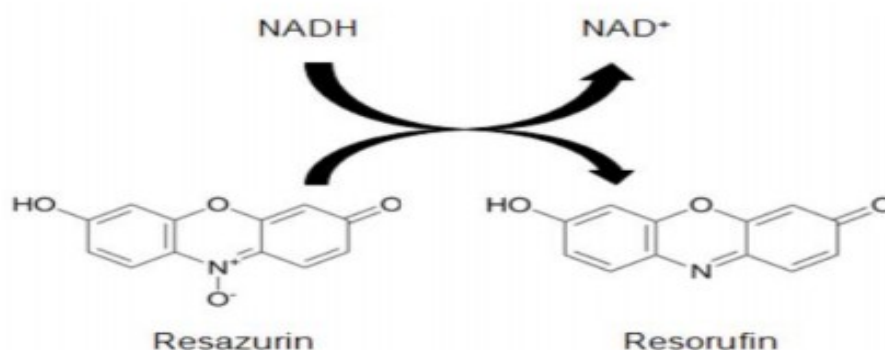


Figura 10: Reação de oxi-redução da resazurina em resorufina após conversão pelas enzimas do sistema de transporte do metabolismo celular. ChemDraw Ultra (2004).

Para obtenção da suspensão bacteriana para realização dos ensaios, foram retiradas de duas a três colônias de bactéria de uma cultura de 24 horas em meio BHI sólido (Himedia[®]), que foram ressuspensas em solução salina 0,09% estéril, até atingir turvação igual à suspensão correspondente ao tubo 0,5 da escala de McFarland. A concentração foi também confirmada por meio da leitura espectrofotométrica em espectrofotômetro (Biospectro[®]) a 625 nm, onde a faixa de absorvância deve estar entre 0,08 a 0,1, em que a suspensão deve conter aproximadamente de $1,2 \times 10^8$ UFC/mL. Na sequência, 1 mL dessa suspensão foi diluída em 9 mL de Caldo Muller Hinton (Himedia[®]), obtendo uma suspensão de $1,0 \times 10^7$ UFC/mL, que foi a utilizada nos ensaios, sendo 50 µL/poço distribuídos em placas de 96 poços (Sarstedt[®]) juntamente com 50 µL dos extratos nas diferentes concentrações testadas (125; 250; 500 e 1000 µg/mL).

Foram utilizados os seguintes controles: de esterilidade do meio (caldo Muller Hinton sem suspensão bacteriana), do solvente (caldo Muller Hinton com 0,125% de DMSO na presença da suspensão bacteriana), controle dos extratos nas concentrações testadas (sem suspensão bacteriana), controle de viabilidade (meio Muller Hinton na presença de suspensão bacteriana) e controle positivo ou fármaco padrão (Clorafenicol a 30 µg/mL). Foram realizadas triplicatas dos experimentos e das concentrações dos extratos e dos controles testados. Depois da adição de todos os extratos e controles as placas foram agitadas por 15 minutos em agitador orbital (Fanem[®]) e incubadas por 24 horas, em estufa bacteriológica (Solab[®]), a 37°C.

Posteriormente, foi adicionado, em cada poço, 30 µL da solução aquosa de Resazurina 0,01%, seguida de homogeneização em agitador orbital (Fanem®). As placas foram novamente incubadas por 4 horas, a 37° C. Posteriormente, foi realizada a leitura visual das placas e os extratos que não apresentaram a coloração rosa foram considerados com atividade antibacteriana.

Os extratos que apresentarem atividade antibacteriana nas concentrações testadas foram avaliados quanto à ação bactericida ou bacteriostática, sendo 10 µL do conteúdo do poço em que o extrato foi ativo, diluído em 10 mL de solução salina 0,09%, proporção 1:1000. Após a homogeneização, 100 µL dessa suspensão foi espalhada sobre a superfície de placas de cultura, contendo o meio BHI (Himedia®). Após incubação em estufa bacteriológica (Solab®), a 37°C, por 24 horas, as placas foram analisadas: na ausência de crescimento bacteriano os extratos foram considerados com atividade bactericida e na presença de crescimento os extratos foram considerados com atividade bacteriostática. Todos os controles feitos também foram avaliados quanto a essas atividades. Os extratos e controles analisados foram testados em triplicata.

4.3.6 Avaliação da atividade antifúngica

4.3.6.1 Fungos: Filamentosos e Leveduras e Manutenção

Foram utilizadas quatro espécies de leveduras (*Candida albicans* ATCC 90028; *Candida famata* ATCC 62894; *Candida krusei* ATCC 34135 e *Candida tropicalis* ATCC 28707) e duas espécies de fungos filamentosos (*Aspergillus niger* ATCC 10535 e *Penicillium expansum* ATCC 1117), fornecidas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, Rio de Janeiro).

Essas espécies foram criopreservadas no Laboratório de Doenças Parasitárias da UFVJM, após expansão em caldo YPD (2% de glicose, 1% de extrato de levedura, 2% de peptona e 2% de ágar) e adição de 30% de glicerol, sendo mantidas em freezer – 20 °C. Para a realização dos ensaios foram descongeladas a temperatura ambiente, repicadas em meio Agar Sabouraud (Himedia®) em capela de fluxo laminar (Veco®) e incubadas em estufa

bacteriológica (Solab®), por 48 horas, a 37°C no caso das leveduras e por cinco a sete dias a 28°C para os fungos filamentosos.

4.3.6.2 Ensaio para determinação da atividade antifúngica dos extratos

Para a determinação da concentração inibitória mínima sobre células fúngicas, foi utilizado o método de microdiluição em placa, com modificações, de acordo com as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), documento M38-A (NCCLS, 2002) para fungos filamentosos e, documento M27-A2 (NCCLS, 2002) para leveduras.

A suspensão para realização dos ensaios foi obtida por meio da retirada de duas a três colônias de leveduras de uma cultura de 48 horas em meio sólido Ágar Sabouraud (Himedia®), que foram ressuspensas em solução PBS estéril, até atingir turvação igual à suspensão correspondente ao tubo 0,5 da escala de McFarland. Em seguida, a concentração foi confirmada por meio da leitura espectrofotométrica em espectrofotômetro (Biospectro®) a 530 nm, onde a faixa de transmitância deve estar entre 0,25 a 0,30. Esse procedimento forneceu uma suspensão de levedura contendo cerca de 1×10^6 a 5×10^6 células/mL. Posteriormente, essa suspensão foi diluída na proporção de 1:20 com meio RPMI tamponado, resultando em uma suspensão na concentração de $5,0 \times 10^2$ a $2,5 \times 10^3$ células/mL.

O inóculo contendo os fungos filamentosos foi preparado cobrindo as colônias de sete dias, com aproximadamente 1 mL de PBS 1M (pH 7,4) estéril, homogeneizando delicadamente com a ponta de uma pipeta. Essa mistura foi transferida para um tubo cônico com aproximadamente 10 mL de PBS estéril. Após cinco minutos, a densidade da suspensão foi ajustada para uma densidade óptica em torno de 0,09 a 0,11 a 530 nm. Essa suspensão foi diluída na proporção de 1:50, resultando em uma suspensão na concentração de $0,4 \times 10^4$ a 5×10^4 UFC/mL, aproximadamente.

Para os ensaios (leveduras e fungos filamentosos) foram utilizadas placas de 96 poços (Sarstedt®) e em cada poço foram adicionados 50 µL do inóculo da suspensão de micro-organismo e 50 µL das diferentes concentrações dos extratos (125; 250; 500 e 1000 µg/mL). Foram utilizados os seguintes controles: de esterilidade do meio (meio RPMI tamponado com Mops), do solvente (RPMI tamponado com Mops com 0,125% de DMSO e suspensão fúngica), controle dos extratos nas concentrações testadas (sem suspensão fúngica), controle

de viabilidade (meio RPMI tamponado com Mops) e controle positivo ou fármaco padrão (anfotericina B a 4µg/mL). Foram realizadas triplicatas dos experimentos e das concentrações dos extratos e dos controles testados. Depois da adição de todos os extratos e controles as placas foram agitadas por 15 minutos, em agitador orbital (Fanem[®]) e incubadas em estufa bacteriológica (Solab[®]), a 37° C, durante 48h (leveduras) e a 28° C durante 72h (fungos filamentosos).

Posteriormente, a mesma metodologia descrita no item 4.3.5.2 foi empregada para a avaliação da atividade antifúngica (Resazurina) e avaliação quanto à atividade fungicida e fungistática dos extratos ativos, diferindo apenas no tempo e na temperatura de incubação: durante 48h e 37° C para leveduras e durante 72h a 28° C para fungos filamentosos.

4.4 Parâmetros para seleção de plantas com atividades biológicas promissoras: determinação e avaliação da IC₅₀, do Índice de Seletividade, da Eficácia e da Concentração Inibitória Mínima

Alguns parâmetros foram considerados para selecionar os extratos das espécies vegetais mais promissoras, em comparação com os seus respectivos fármacos padrão, a serem avaliadas no presente estudo. Para os ensaios de citotoxicidade, atividade antitumoral, tripanocida e leishmanicida, os resultados obtidos foram utilizados para o cálculo da IC₅₀ usando o Software GraphPad Prism 5.0, considerando o intervalo de 95% de confiança. A IC₅₀ corresponde à concentração capaz de matar 50 % das células tumorais ou dos parasitas.

A citotoxicidade frente às células L929 foi comparada com a atividade frente às células tumorais (MDA-MB-231), as formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepa Colombiana) e formas promastigotas de *Leishmania (leishmania) infantum* (MHOM/BR/1070/BH46) e de *Leishmania (leishmania) amazonensis* (MHOM/BR/73/M2269), usando o índice de seletividade (IS) (razão: CC₅₀ de células normais/IC₅₀ células tumorais ou parasitos). Foram considerados seletivos aqueles que tiveram IS maior ou igual a 2,0, o que sugere que o extrato avaliado é duas vezes mais ativo frente às células tumoral ou parasitas avaliados do que as células normais (SUFFNES & PEZZUTO, 1991).

Foi calculada a eficácia dos fármacos padrão frente às células tumorais e parasitas (razão: atividade do fármaco padrão/atividade dos extratos) x 100. A atividade apresentada

pelos extratos também foram comparadas com a atividade dos fármacos padrões frente a células tumorais e parasitos.

Já para a avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos, considerou-se os seguintes valores de CIM: CIM igual ou menor que 250 µg/mL para atividade forte, atividade moderada CIM entre 250 e 750 µg/mL, atividade fraca CIM entre 750 e 1000 µg/mL e sem atividade CIM > 1000 µg/mL.

4.5 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism, versão 5.0 Software Inc.). Para análise da normalidade dos dados utilizou-se o teste Shapiro-Wilk e as diferenças entre as variáveis com distribuição normal foram testadas utilizando ANOVA com pós-teste de Tukey. Para as variáveis com distribuição assimétrica, foi utilizado o teste Kruskal-Wallis com pós-teste de *Dunns* ou ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni. Diferenças significativas foram consideradas quando $p < 0,05$, adotando intervalo de confiança de 95%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foi realizada triagem fitoquímica preliminar e de atividades biológicas, de 12 plantas, provenientes do Cerrado, do município de Diamantina MG, sendo investigadas a citotoxicidade e as atividades antitumoral, tripanocida, leishmanicida, antibacteriana e antifúngica. Com o intuito de facilitar a apresentação e compreensão dos resultados e da discussão, os dados serão divididos em duas seções: a) a primeira compreende aqueles referentes à análise fitoquímica preliminar de todas as plantas avaliadas neste estudo e, b) segunda os dados obtidos com a avaliação das atividades biológicas de cada espécie vegetal.

5.1 Análise Fitoquímica Preliminar

A análise fitoquímica preliminar, para determinação da presença das principais classes de metabólitos secundários das espécies vegetais foi realizada por meio de reações cromogênicas e de precipitação e de cromatografia em camada delgada comparativa. Essas análises foram realizadas conforme descrito por Simões *et al.* (2007) e pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2016). O resultado foi considerado positivo quando houve a formação de precipitado e o aparecimento de cor, indicando que no extrato avaliado existe, provavelmente, a classe de metabólito investigada; já o resultado negativo indica a ausência do metabólito investigado ou que esse possa estar presente em uma baixa concentração naquele extrato avaliado. A seguir serão descritos para cada classe de metabólito investigado os resultados frente a cada espécie vegetal avaliada. Os resultados observados para todos os extratos brutos das plantas investigados, concernentes aos metabólitos avaliados estão sumariados na Tabela 1 do Anexo B.

5.1.1 Pesquisa de Alcalóides

Nos ensaios para detecção de alcalóides, somente os extratos etanólico das folhas de *A. dasycarpum*, da raiz de *C. ovalifolia* e das folhas de *P. rigida* foram considerados positivos para a presença de alcalóides. Nos extratos das outras espécies analisadas não foram detectados alcalóides (Tabela 1).

Estes resultados estão em concordância com outros estudos descritos na literatura que também relataram a presença de alcalóides, para: a) fração metanólica das raízes e extrato etanólico das folhas de *C. ovalifolia* (AGUIRRE-GALVIS, 1995; FISCHER *et al.*, 2004; GORINSK, 1973; TEMPONE *et al.*, 2005; STEELE *et al.*, 2002); b) extrato hexânico bruto do cerne das raízes, extrato metanólico bruto e diclorometânico da casca da raiz de *A. dasycarpum* (TREVISAN *et al.*, 2008; PARIZOTTO *et al.*, 2004; FIGUEIREDO, 2009); e c) extrato etanólico e hidroalcoólico das folhas, extrato etanólico das partes aéreas e extrato aquoso das folhas de *P. rigida* (SILVA *et al.*, 2006; ROSA *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2014; SOARES *et al.*, 2012; MORAES, 2013).

Tabela 1: Resultados referentes à pesquisa de alcalóides nos extratos das espécies vegetais, por meio de reações de precipitação com os Reagentes Gerais para Alcalóides.

Pesquisa de Alcalóide									
Extrato Etanólico	Parte utilizada	Pesquisa Direta				Pesquisa Confirmatória			
		Reagentes Gerais de Alcalóides				Reagentes Gerais de Alcalóides			
		Dragendorff	Bouchardat	Mayer	Bertrand	Dragendorff	Bouchardat	Mayer	Bertrand
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Acrocomia aculeata</i> *	Folhas	—	**	—	—	—	**	—	—
<i>Alternanthera sp. Forssk.</i>	Folhas	+	—	—	+	—	—	—	—
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	—	—	—	—	—	—	—	—
	Raíz	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	—	—	—	—	—	—	—	—

(+) positivo; (-) negativo; (*) resultados aqui apresentados são de outro trabalho realizado pelo nosso grupo, devido à indisponibilidade de extrato e impossibilidade de realizar nova coleta e preparar novo extrato; (**) não foi realizado; Partes aéreas: galhos e folhas.

Estudos concernentes ao extrato etanólico das folhas e galhos de *C. adamantium*, extrato etanólico bruto das folhas de *S. rugosa* e das folhas e raízes de *P. tomentosa* também mostraram a ausência deste metabólito, estando os dados aqui apresentados de acordo com os da literatura (SALVADOR *et al.*, 2015; FARIAS *et al.*, 2010; SOUZA & GRAEL, 2014).

Para as espécies *T. cathartica*, *A. aculeata* e *E. horridum* não foram encontrados estudos fitoquímicos, em que foi realizada a pesquisa de alcalóides.

Com relação à espécie *B. oxyclada* foi descrito um estudo, onde a espécie foi positiva para a pesquisa de alcalóide (SOUZA & GRAEL, 2014) e outro estudo no qual o teste foi negativo para esta classe de metabólito (MARTINS *et al.*, 2014). No estudo de Souza & Grael (2014), foi utilizada a mesma parte, extrato da mesma polaridade e a planta foi proveniente da mesma região da espécie do presente estudo. Contudo a sazonalidade, ritmo circadiano, outros fatores ambientais, o desenvolvimento e a constituição genética podem influenciar no conteúdo de metabólito secundário de espécies vegetais (GOBBO-NETO & LOPES, 2007), o que provavelmente justificaria a diferença entre os estudos. Além disso a espécie pertence ao mesmo gênero da planta utilizada na constituição da bebida sagrada ayahuasca, a *Banisteriopsis caapi*, rica em alcalóides e com atividades biológicas sobre o sistema nervoso (WANG *et al.*, 2010).

Já para o gênero *Alternanthera* sp., alguns estudos obtiveram resultados semelhantes ao observado no presente trabalho, não verificando a presença de alcalóides para o extrato aquoso de toda espécie *Alternanthera tenella* (BIELLA *et al.*, 2008). Por outro lado, sua presença foi verificada nas espécies *Alternanthera brasiliana* e *Alternanthera sessilis* (BARUA *et al.*, 2012; MONDAL *et al.*, 2014). Esses autores tiveram resultados diferentes dos aqui apresentados, e as possíveis diferenças podem ser devido a parte utilizada da espécie vegetal, o tipo de solvente, metodologia para a pesquisa de alcalóides, além das espécies citadas acima, poderem não ser a mesma que a utilizada no presente estudo. No primeiro, foi utilizada todas as partes do vegetal para produzir o extrato e somente foi realizada a reação com o reagente de Dragendorff, já no segundo o extrato utilizado foi metanólico e os reagentes para a pesquisa deste metabólito utilizado foram Dragendorff e Wagner.

Segundo um estudo feito por Ribeiro *et al.* (2010), no extrato hidroalcoólico dos ramos de *E. erythropappus* foi detectada a presença de alcalóides, diferentemente dos nossos resultados. Contudo, neste estudo foi utilizado extrato hidroalcoólico dos ramos em fase de

floração de *E. erythropappus*, o que difere do nosso, justificando talvez divergência entre os resultados dos estudos.

Em geral, as diferenças observadas entre o presente estudo e outros da literatura aqui expostos devem estar associadas a fatores que podem influenciar na expressão e/ou no conteúdo de metabólitos secundários observados como a natureza química do extrato, forma de extração, parte da planta utilizada, fatores bióticos (interações planta/micro-organismos, planta/planta, planta/inseto, idade, características genéticas, estágio de desenvolvimento e ritmo circadiano) e abióticos (luminosidade, temperatura, pluviosidade, estado nutricional, sazonalidade, disponibilidade hídrica, radiação UV, composição atmosférica e altitude) e variações sazonais (GOOBO-NETO & LOPES, 2007; MORAIS, 2009).

5.1.2 Pesquisa de Antraquinonas

Considerando a pesquisa de antraquinonas, apenas os extratos etanólico das folhas de *A. dasycarpum*, de *E. erythropappus* e de *S. rugosa*, apresentam antraquinonas em sua composição (Tabela 2).

A presença de antraquinonas já foi relatada para o extrato hidroalcoólico de ramos de *E. erythropappus* (RIBEIRO *et al.*, 2010) e do extrato etanólico das raízes *S. rugosa* (BARBOSA *et al.*, 2004). Já a espécie *A. dasycarpum* não possui estudos em que tenha sido realizada a investigação desta classe de metabólito. Contudo, antraquinonas são comuns na família Fabaceae a qual esta espécie pertence (BRUNETON, 2001; GRITSANAPAN *et al.*, 1999; SAHU *et al.*, 2014), corroborando os dados do presente estudo.

Alguns estudos divergem dos resultados aqui apresentados. Moraes *et al.* (2013) mostrou a presença de antraquinonas no extrato etanólico das folhas de *P. rigida*, através da reação de Borntrager, semelhante ao experimento realizado no presente estudo. Contudo, o fato das espécies serem de localidades diferentes, pode ter influenciado no conteúdo de metabólitos secundários, podendo explicar a divergência entre os resultados, como discutido anteriormente.

Tabela 2: Resultados referentes à pesquisa de antraquinonas nos extratos das espécies vegetais através da Reação de Borntrager Direta.

Pesquisa de Antraquinonas		
Extrato Etanólico	Parte utilizada	Teste para Antraquinonas
		Reação de Borntrager Direta
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	+
<i>Acrocomia aculeata</i> *	Folhas	—
<i>Alternanthera sp. Forssk.</i>	Folhas	—
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	—
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	—
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	—
	Raiz	—
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	+
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	—
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	—
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	—
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	+
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	—

(+) positivo; (-) negativo; (*) resultados aqui apresentados são de outro trabalho realizado pelo nosso grupo, devido à indisponibilidade de extrato e impossibilidade de realizar nova coleta e preparar novo extrato; Partes aéreas: galhos e folhas.

5.1.3 Pesquisa de Cumarinas

Somente os extratos etanólico das folhas de *A. aculeata* e *P. rigida* emitiram a coloração azul fluorescente quando submetidos à radiação UV após tratamento com KOH, sendo então considerados positivos para a presença de cumarina (Tabela 3).

Outros trabalhos também demonstraram a presença deste metabólito para estas espécies, como no extrato etanólico e aquoso das folhas de *P. rigida* (OLIVEIRA *et al.*, 2014; MORAES *et al.*, 2013) e no extrato metanólico das raízes e dos talos de *A. aculeata* (RODRÍGUEZ *et al.*, 2009).

Tabela 3: Resultados referentes à pesquisa de cumarinas nos extratos das espécies vegetais através da Cromatografia Comparativa em Camada Delgada com KOH e radiação UV, como agentes reveladores.

Pesquisa de Cumarinas		
Extrato Etanólico	Parte	Teste para Cumarinas

	utilizada	CCDC/agente revelador: KOH e radiação UV
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	-
<i>Acrocomia aculeata</i> *	Folhas	+
<i>Alternanthera sp. Forssk.</i>	Folhas	-
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	-
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	-
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	-
	Raiz	-
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	-
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	-
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	+
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	-
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	-
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	-

(+) positivo; (-) negativo; (*) resultados aqui apresentados são de outro trabalho realizado pelo nosso grupo, devido à indisponibilidade de extrato e impossibilidade de realizar nova coleta e preparar novo extrato; Partes aéreas: galhos e folhas.

Os extratos etanólico das folhas de *E. erythropappus* e de *C. adamantium* não apresentaram cumarinas. Contudo, em um estudo realizado com o extrato hidroalcoólico dos ramos de *E. erythropappus* (RIBEIRO *et al.*, 2010) e com o extrato etanólico de folhas e ramos de *C. adamantium* (SALVADOR, 2015) este metabólito estava presente. A diferença na natureza química do extrato (solvente extrator utilizado), a parte da planta que foi utilizada, bem como a localidade em que foi coletada a amostra vegetal podem justificar as divergências observadas.

Os demais extratos avaliados apresentaram negatividade para o teste de cumarinas e, não foram encontrados estudos em que estas espécies tenham sido avaliadas com relação a este metabólito.

5.1.4 Pesquisa de metabólitos de natureza terpênica (Esteróides e Triterpenos)

Das 12 plantas que foram avaliadas quanto à presença de terpenóides, 10 extratos foram positivos para a pesquisa desta classe de metabólito secundário, sendo eles: extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk., das folhas de *A. dasycarpum*, das folhas de *B. oxyclada*, das raízes e das partes aéreas de *C. ovalifolia*, das folhas de *C. adamantium*, das

partes aéreas de *E. horridum*, das folhas de *P. rigida*, das folhas de *P. tomentosa* e da planta inteira da espécie *T. cathartica* (Tabela 4).

Os extratos etanólicos da planta inteira de *T. cathartica* e das folhas de *A. aculeata*, não apresentaram esta classe de metabólito. A primeira ainda não havia sido investigada com relação à presença de constituintes de natureza terpênica. Entretanto, em um estudo realizado por Oliveira *et al.* (2016), saponinas foram encontradas na triagem fitoquímica do extrato etanólico de *A. aculeata*. Nestes estudos foram utilizadas plantas de diferentes regiões que podem diferir no conteúdo e na quantidade de seus metabólitos secundários, o que poderia explicar os diferentes resultados.

As espécies *C. ovalifolia* e *E. horridum* também não foram investigadas quanto a presença destes metabólitos, porém o presente estudo revelou que sua pesquisa foi positiva nos extratos etanólico das partes aéreas e raiz, e das partes aéreas, respectivamente (Tabela 4). Estes resultados estão em conformidade com a literatura, visto que esta classe de metabólitos já foi reportada para outras espécies pertencentes ao gênero *Cissampelos*: como no extrato metanólico das folhas de *C. parreira* (PRABHA & SAVITHRAMMA, 2014), no extrato etanólico das raízes de *C. mucronata* (NWAFOR *et al.*, 2002) e no extrato hidroalcoólico das folhas de *C. sympodialis* (CAVALCANTI *et al.*, 2014); no extrato clorofórmio e metanólico das folhas de *Eryngium. foetidum* (ASWATHY & SAY, 2014) e nos extratos aquoso e metanólico das partes aéreas de *Eryngium thorifolium* (URAL *et al.*, 2014).

Tabela 4: Resultados referentes à pesquisa de metabólitos de natureza terpênica (esteróides/triterpenos) nos extratos das espécies vegetais através da Reação de Liebermann-Burchard e de Salkowisk.

Pesquisa de metabólitos de natureza terpênica (Esteróides e Triterpenos)			
Extrato Etanólico	Parte utilizada	Teste para Esteróides e Triterpenos	
		Reação de Liebermann-	Reação de Salkowisk
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	+	+
<i>Acrocomia aculeata</i> *	Folhas	—	**
<i>Alternanthera sp. Forssk.</i>	Folhas	+	+
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	+	+
<i>Campomanesia</i>	Folhas	+	+
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	+	+
	Raiz	+	+
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	+	+
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	+	+
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	+	+

<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	+	-
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	+	+
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	-	-

(+) positivo; (-) negativo; (*) resultados aqui apresentados são de outro trabalho realizado pelo nosso grupo, devido à indisponibilidade de extrato e impossibilidade de realizar nova coleta e preparar novo extrato; (**) não foi realizado; Partes aéreas: galhos e folhas.

Esteróides e triterpenos foram também encontrados nos extratos etanólico das folhas de *A. dasycarpum*, das folhas de *B. oxyclada*, das folhas de *C. adamantium*, das folhas de *E. erythropappus*, das folhas de *P. rigida*, das folhas de *P. tomentosa* e das folhas de *S. rugosa* (Tabela 4). Todos estes dados estão em concordância com a literatura, visto que estudos mostram a presença desta classe de metabólito secundário em extratos etanólico das folhas de *B. oxyclada* (SOUZA & GRAEL, 2014), no extrato etanólico das folhas e raízes de *P. tomentosa* (SOUZA & GRAEL, 2014), no extrato hexânico bruto do cerne das raízes, das folhas, da casca do caule, extrato metanólico bruto e diclorometano da casca da raiz e metanólico das folhas de *A. dasycarpum* (MACHADO *et al.*, 2007; PARIZOTTO *et al.*, 2004; FIGUEIREDO, 2009; SILVA *et al.*, 2015), no extrato etanólico das folhas de *P. rigida* (MORAES *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2014), no óleo essencial das folhas e ramos de *E. erythropappus* (NASCIMENTO *et al.*, 2007; SILVÉRIO *et al.*, 2013; RIBEIRO *et al.*, 2010; SOUSA *et al.*, 2008a; SANTOS *et al.*, 2015b), no extrato etanólico das sementes de *S. rugosa* (FARIAS *et al.*, 2010), e no óleo essencial dos frutos e folhas e no extrato e na fração hexânica dos frutos de *C. adamantium* (VALLILO *et al.*, 2006; CARDOSO *et al.*, 2010; COUTINHO *et al.*, 2009). Contudo, de acordo com Salvador (2015) o extrato etanólico das folhas e galhos desta mesma espécie não apresentou este tipo de metabólito. Este estudo difere do aqui apresentado, visto que o extrato etanólico utilizado foi a 20% e a espécie era proveniente de Campo Grande /MS, o que poderia justificar os resultados distintos observados.

O extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* sp. Forssk também apresentou positividade na investigação deste metabólito secundário (Tabela 4), estando este resultado de acordo com a literatura, visto que em outras espécies do gênero, tais como *A. sessilis* e *A. brasiliana*, a presença deste metabólito também foi demonstrada no extrato etanólico da planta inteira de *A. sessilis* (MONDAL *et al.*, 2014) e no extrato metanólico das sementes de *A. brasiliana* (MACEDO *et al.*, 2004).

5.1.5 Pesquisa de Flavonóides

Na pesquisa de flavonóides, dos 13 extratos etanólicos estudados somente dois foram negativos para a presença deste metabólito secundário: a) extrato das partes aéreas de *E. horridum* e c) extrato das folhas de *P. rigida* (Tabela 5).

Apesar da reação com hidróxido alcalino e com cloreto férrico terem sido positivas para os extratos das partes aéreas de *E. horridum* e das folhas de *P. rigida*, estes foram considerados negativos, pois a reação de Shinoda é a específica para esta classe de metabólito e quando esta não apresenta positividade, mesmo na presença das outras positivas, o extrato pode ser considerado negativo para a presença de flavonóides. Já as reações com álcalis e com cloreto férrico podem detectar qualquer classe de compostos de natureza fenólica.

Tabela 5: Resultados referentes à pesquisa de flavonóides nos extratos das espécies vegetais, por meio de Reação de Shinoda (Cianidina), Reação com Hidróxido Alcalino e Reação com Cloreto Férrico

Pesquisa de Flavonóides				
Extrato Etanólico	Parte utilizada	Testes para Flavonóides		
		Reação de Shinoda	Reação com Hidróxido Alcalino	Reação com Cloreto Férrico
<i>Acosmium</i>	Folhas	Cor alaranjada (+)	Cor amarela (+)	Cor verde claro (+)
<i>Acrocomia aculeata</i> *	Folhas	Cor vermelha (+)	**	Cor verde escuro (+)
<i>Alternanthera sp.</i>	Folhas	Cor alaranjada (+)	Cor amarela (+)	Cor verde claro (+)
<i>Banisteriopsis</i>	Folhas	Cor vermelha (+)	Cor amarela (+)	Cor verde escuro (+)
<i>Campomanesia</i>	Folhas	Cor vermelha (+)	Cor amarela (+)	Cor verde escuro (+)
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	Cor alaranjada (+)	Cor amarela (+)	Cor verde claro (+)
	Ra	Cor alaranjada (+)	Cor amarela (+)	Cor verde claro (+)
<i>Eremanthus</i>	Folhas	Cor vermelha (+)	Cor amarela (+)	Cor verde escuro (+)
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	—	Cor amarela (+)	Cor verde escuro (+)
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	—	Cor amarela (+)	Cor amarela (+)
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	Cor vermelha (+)	Cor amarela (+)	Cor verde escuro (+)
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	Cor vermelha (+)	Cor amarela (+)	Cor verde escuro (+)
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	Cor vermelha (+)	Cor amarela (+)	Cor verde escuro (+)

(+) positivo; (-) negativo; (*) resultados aqui apresentados são de outro trabalho realizado pelo nosso grupo, devido à indisponibilidade de extrato e impossibilidade de realizar nova coleta e preparar novo extrato; (**) não foi realizado.

Em relação a estas espécies, tanto a *E. horridum* quanto a *T. cathartica* não apresentaram estudos prévios de avaliação fitoquímica. Já a *P. rigida* possui alguns estudos, onde esta espécie foi investigada e foi detectada a presença de flavonóides (OLIVEIRA *et al.*, 2014; ALVES *et al.*, 2011; ROSA *et al.*, 2010; MORAES, 2013), diferindo do resultado aqui

apresentado. Todavia, estes estudos apresentam algumas diferenças em relação ao nosso o que poderia justificar as discrepâncias entre ambos. Por exemplo, nos estudos de Oliveira *et al.* (2014) e Moraes (2013), foi utilizada a espécie oriunda de outra localidade, cidade de Campo Grande/MS e São João Del-Rei/MG, respectivamente. No estudo de Alves *et al.* (2011), foi avaliado o extrato hidroalcoólico desta espécie por meio de Cromatografia em Camada Delgada; já no trabalho de Rosa *et al.* (2010), foi utilizado o extrato metanólico bruto da espécie proveniente de Goiânia/GO.

Considerando as espécies vegetais positivas para a presença de flavonóides, vários trabalhos corroboram os dados aqui obtidos. Exemplificando, a presença de flavonóides foi detectada em algumas espécies do gênero *Alternanthera*, tais como: extrato metanólico das folhas de *Alternanthera paronychioides* (WU *et al.*, 2013) e extrato etanólico preparado com a planta inteirada espécie *Alternanthera sessilis* (MONDAL *et al.*, 2014); extrato aquoso das folhas de *A. aculeata* (LORENZI, 2006; SILVA *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2016); extrato metanólico bruto das cascas das raízes de *A. dasycarpum* (PARIZOTTO *et al.*, 2004); extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* (SOUZA & GRAEL); extrato acetato de etila das folhas e extrato etanólico das folhas e galhos de *C. adamantium* (FERREIRA *et al.*, 2013; SALVADOR *et al.*, 2015); extrato hidroalcoólico dos ramos em floração de *E. erythropappus* (RIBEIRO *et al.*, 2010) e, extratos aquoso e etanólico das raízes, e etanólico das folhas de *S. rugosa* (EBERHARDT, 2012).

Por outro lado, em relação à espécie *P. tomentosa* foi detectada divergência, uma vez que neste estudo o extrato apresentou flavonóides e, de acordo com Souza e Grael (2014) o extrato etanólico das folhas e raiz desta mesma espécie foi negativo para este metabólito. Esta diferença, provavelmente, pode ser explicada devido a diferenças nas condições ambientais e climáticas da época da colheita das espécies vegetais que poderiam contribuir para a expressão diferencial de metabólitos pela planta (GOBBO-NETO & LOPES, 2007), visto que em ambos os trabalhos foi utilizada a mesma parte vegetal, o mesmo solvente e as amostras foram provenientes da mesma região.

Apesar de não ter sido encontrado nenhum estudo fitoquímico em que tenha sido avaliada a espécie *C. ovalifolia* quanto à presença de flavonóides, em outras plantas do gênero *Cissampelos*, esta classe de metabólito secundário tem sido comumente encontrada, como no extrato hidroalcoólico das folhas de *C. sympodialis* (CAVALCANTI *et al.*, 2014) e no extrato

hexânico das partes aéreas *Cissampelos capensis* (BADAJIDE *et al.* (2015), semelhante ao observado no extrato etanólico das partes aéreas e da raiz desta espécie deste estudo.

5.1.6 Pesquisa de Saponinas

A presença de saponinas foi verificada em seis das doze plantas avaliadas, incluindo: os extratos etanólicos das folhas de *Alternanthera sp.*, das folhas de *B. oxyclada*, das folhas de *C. adamantium*, das folhas de *P. rigida*, das folhas de *P. tomentosa* e das partes aéreas de *E. horridum*. Por outro lado, os extratos etanólicos das partes aéreas e raiz de *C. ovalifolia*, das folhas de *A. aculeata*, das folhas de *A. dasycarpum*, das folhas de *E. erythropappus*, das folhas de *S. rugosa* e da planta inteira da espécie *T. cathartica* não apresentaram este metabólito (Tabela 6).

Dados na literatura também relataram a presença de saponinas no extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa* (SOUZA & GRAEL, 2014) e no extrato etanólico das folhas e galhos de *C. adamantium* (SALVADOR *et al.*, 2015), corroborando os resultados aqui obtidos para essa planta.

Em relação a outras plantas estudadas, muitas ainda não haviam sido avaliadas quanto à presença de saponinas, mas a ocorrência deste metabólito é muito comum em outras espécies dos respectivos gêneros, como: a) espécies do gênero *Alternanthera*: extrato acetato de etila das folhas de *Alternanthera brasiliana* (SAMUDRALA *et al.*, 2015), extrato aquoso da planta inteira de *Alternanthera tenella* (BIELLA *et al.*, 2008); b) espécies do gênero *Eryngium*: extrato etanólico da planta inteira de *Eryngium yuccifolium* (ZHANG *et al.*, 2008) e das espécies *Eryngium planum*, *Eryngium giganteum*, *Eryngium maritimum*, *Eryngium bromeliifolium* e *Eryngium amethystinum*, de onde foram isoladas várias saponinas triterpênicas, como foi revisado por Erdem *et al.* (2015).

Segundo Oliveira *et al.* (2016), o extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* apresentou saponinas em sua composição, diferindo do resultado aqui apresentado para o extrato desta espécie. Contudo, apesar de ter utilizado a mesma parte vegetal e o mesmo solvente para confecção do extrato, plantas coletadas de diferentes localidades, podem sofrer

influência ambiental e climática distintas, levando a alteração na expressão do conteúdo de seus metabólitos secundários.

Para o extrato etanólico das folhas de *P. rigida* foi identificada a presença de saponinas, contudo em um estudo realizado com o extrato aquoso (20%) e etanólico (20%) das folhas desta mesma espécie este metabólito foi encontrado apenas no extrato aquoso (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Entretanto, o fato desse estudo ter utilizado a espécie oriunda de Campo Grande (MS) e extrato etanólico a 20%, poderiam ter influenciado qualitativa e quantitativamente no conteúdo de metabólitos secundários presentes neste extrato, originando um resultado diferente do aqui apresentado.

Tabela 6: Resultados referentes à pesquisa de saponinas nos extratos das espécies vegetais através da observação da propriedade afrogênica.

Pesquisa de Saponinas		
Extrato Etanólico	Parte utilizada	Teste para Saponinas
		Observação da propriedade afrogênica
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	—
<i>Acrocomia aculeata</i> *	Folhas	—
<i>Alternanthera sp. Forssk.</i>	Folhas	+
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	+
<i>Campomanesia</i>	Folhas	+
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	—
	Raíz	—
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	—
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	+
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	+
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	+
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	—
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	—

(+) positivo; (-) negativo; (*) resultados aqui apresentados são de outro trabalho realizado pelo nosso grupo, devido à indisponibilidade de extrato e impossibilidade de realizar nova coleta e preparar novo extrato; Partes aéreas: galhos e folhas.

Saponinas foram detectadas no extrato aquoso das raízes de *S. rugosa* (FARIAS *et al.*, 2010) e no extrato hidroalcoólico de ramos de *E. erythropappus* (RIBEIRO *et al.*, 2010). Já no presente estudo este metabólito não foi detectado nos extratos etanólico das folhas destas espécies. Como não foi utilizada a mesma parte vegetal e os solventes para o preparo dos extratos foram diferentes, esses fatores poderiam explicar a diferença entre os estudos e dificultar a comparação dos resultados.

No extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* foi encontrada a presença de saponinas. Entretanto, segundo Souza & Grael (2014) o extrato etanólico das folhas desta mesma

espécie, proveniente da mesma região do presente estudo, não evidenciou a presença de saponinas. Porém, sabendo que os fatores climáticos interferem no conteúdo e na quantidade de metabólitos secundários dos vegetais, as espécies podem ter sido coletadas em épocas do ano diferentes, justificando a divergência nos resultados (GOBBO-NETO & LOPES, 2007)

De um modo geral, todas as divergências aqui apresentadas, possivelmente, podem ser explicadas pela influência das variações sazonais e/ou pelo tipo de solvente utilizado para a confecção dos extratos e/ou pela parte da planta que foi utilizada, uma vez que esses fatores podem interferir no conteúdo dos metabólitos secundários de uma espécie vegetal (BRAGA *et al.*, 2009; DESOTI *et al.*, 2011; GOBBO-NETO, 2007).

5.1.7 Pesquisa de Taninos

Na análise fitoquímica preliminar a presença de taninos só não foi detectada no extrato etanólico de toda espécie *T. cathartica* (Tabela 7).

Os extratos aquosos e etanólico das folhas e metanólico das raízes e dos talos de *A. aculeata* (SILVA *et al.*, 2007; RODRÍGUEZ *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2016); extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* (SOUZA & GRAEL, 2014); extrato etanólico das folhas e galhos de *C. adamantium* (SALVADOR., 2015); extrato hidroalcoólico dos ramos de *E. erythropappus* (RIBEIRO *et al.*, 2010); extrato etanólico das folhas e aquoso das folhas de *P. rigida* (OLIVEIRA *et al.*, 2014; MORAES *et al.*, 2013); extrato etanólico das folhas e raiz de *P. tomentosa* (SOUZA & GRAEL, 2014); e extrato de algumas espécies do gênero *Alternanthera* (*A. sessilis*, *A. brasiliana* e *A. tenella*) (KANNAN *et al.*, 2014; MONDAL *et al.*, 2014; BIELLA *et al.*, 2008), tem sido relatados na literatura, por apresentarem a presença de taninos, o que corrobora com os dados do presente estudo.

Várias espécies avaliadas no presente estudo não apresentaram estudos fitoquímicos prévios, que demonstrassem a presença desta classe de metabólitos, como: extrato etanólico das folhas de *E. horridum* e *A. dasycarpum*, extrato da planta inteira da espécie *T. cathartica* e extrato etanólico das partes aéreas e raízes de *C. ovalifolia*. Contudo, a avaliação de outras espécies do mesmo gênero ou da mesma família destas espécies tem revelado a presença de taninos, por exemplo: a) em espécies pertencentes ao gênero *Eryngium*, como no extrato

metanólico das folhas de *Eryngium foetidum*, avaliado por HPLC (SINGH *et al.*, 2014) e no extrato metanólico das folhas de *Eryngium palmatum*, analisado espectofotômetricamente pelo ensaio de Folin-Ciocalteu (MARCETIC *et al.*, 2014); b) em espécies pertencentes à família Iridaceae, onde está incluída a *T. cathartica* foi verificada a presença de taninos nos extratos de rizomas e das partes aéreas de *Dierama cupuliflorum* (JUDITH *et al.*, 2014), no extrato metanólico, acetato de etila e aquoso das partes aéreas de *Crocus sativus* (HUSSAIN *et al.*, 2014), no extrato diclorometano-metanol e metanólico do bulbo de *Gladiolus psittacinus* (MUNYEMANA *et al.*, 2013); c) a presença deste metabólito também foi relatada em extratos de espécies do gênero *Acosmium*, como no extrato etanólico da raiz de *Acosmium subelegans* por meio da prospecção qualitativa (VIOLANTE *et al.*, 2008) e, no extrato etanólico das cascas de *Acosmium nitens* através da prospecção qualitativa (BARBOSA *et al.*, 2006) e; d) espécies do gênero *Cissampelos*: no extrato etanólico das folhas de *Cissampelos owariensis* utilizando a prospecção qualitativa (EKEANYANWU *et al.*, 2014), no extrato metanólico das folhas de *Cissampelos parreira* por análise quantitativa (PRABHA & SAVITHRAMMA, 2014) e, no extrato etanólico das raízes de *Cissampelos mucronata* (NWAFOR *et al.*, 2002). Estes dados demonstram que os nossos resultados estão de acordo com a literatura, corroborando o perfil que vem sendo observado para plantas destes gêneros ou famílias.

Na avaliação fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *S. rugosa* foi identificado taninos. Por outro lado, Farias *et al.* (2010) não detectaram este metabólito no extrato aquoso das sementes desta mesma espécie. Porém, vários estudos demonstram que extratos de uma mesma espécie vegetal produzidos com diferentes solventes podem apresentar uma composição química diferente (BRAGA *et al.*, 2009; DESOTI *et al.*, 2011; AZEVEDO *et al.*, 2014), além disso, as partes vegetais utilizadas em diferentes estudos não são as mesmas, o que poderia também justificar a divergência dos resultados obtidos entre estes estudos.

Tabela 7: Resultados referentes à pesquisa de taninos nos extratos das espécies vegetais, por meio de Reação de Shinoda (Cianidina), Reação com Gelatina, Reação com Acetato Neutro de Chumbo, Reação com Acetato Ácido de Chumbo e Reação com Cloreto Férrico.

Pesquisa de Taninos					
Extrato Etanólico	Parte utilizada	Testes para Taninos			
		Reação com Gelatina	Reação com acetato neutro	Reação com acetato	Reação com cloreto
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Condensados (+)	Coloração verde (+)
<i>Acrocomia aculeata</i> *	Folhas	Turvação/Precipitado (+)	**	**	Coloração verde (+)
<i>Alternanthera sp. Forssk.</i>	Folhas	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Condensados (+)	Coloração verde (+)
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Condensados (+)	Coloração verde (+)
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Hidrolisáveis (+)	Coloração azul (+)
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Condensados (+)	Coloração verde (+)
	Raíz	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Condensados (+)	Coloração verde (+)
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Hidrolisáveis (+)	Coloração azul (+)
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Condensados (+)	Coloração verde (+)
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Condensados (+)	Coloração verde (+)
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Condensados (+)	Coloração verde (+)
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	Turvação/Precipitado (+)	Turvação/Precipitado (+)	Condensados (+)	Coloração verde (+)
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	(-)	(-)	(-)	(-)

(+) positivo; (-) negativo; (*) resultados aqui apresentados são de outro trabalho realizado pelo nosso grupo, devido a indisponibilidade de extrato e impossibilidade de realizar nova coleta e preparar novo extrato; (**) não foi realizado; Partes aéreas: galhos e folhas.

5.2 Avaliação das atividades biológicas

Foram investigadas a citotoxicidade e atividades antitumoral, tripanocida, leishmanicida, antibacteriana e antifúngica dos extratos de 12 plantas, provenientes do bioma Cerrado, do município de Diamantina – Região do Vale do Jequitinhonha, através da metodologia de microdiluição em placa, que é um método de fácil execução e relativamente econômico. Os resultados e discussão para cada extrato avaliado serão apresentados de acordo com cada atividade biológica avaliada.

5.2.1 Avaliação da citotoxicidade dos extratos

A avaliação da citotoxicidade foi avaliada sobre fibroblastos de camundongos linhagem L929. Os extratos de todas as plantas avaliadas apresentaram diferentes graus de toxicidade sobre a linhagem L929, com valores de IC_{50} variando de 50,63 a 584,8 $\mu\text{g/mL}$.

Dos 13 extratos avaliados quanto a citotoxicidade as células L929, dez reduziram mais de 90% a viabilidade celular, sendo eles: extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum*, das partes aéreas e raiz de *C. ovalifolia*, das folhas de *A. dasycarpum*, das folhas de *P. rigida*, das folhas de *A. aculeata*, de toda espécie *T. cathartica*, das folhas de *Alternanthera* Forssk, das folhas de *E. erythropappus* e das folhas de *C. adamantium*. Os extratos etanólico das folhas de *P. tomentosa* e das folhas de *B. oxyclada* reduziram entre 84% a 82% e somente o extrato das folhas de *S. rugosa* reduziu em 53,9% a viabilidade celular.

Tabela 8: Resultados da avaliação da citotoxicidade dos extratos etanólico das espécies vegetais sobre células L929.

Citotoxicidade em L929				
Plantas	Parte	ativas (Fc) (µg/mL)	(Rc) (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	1000 a 250	95,0 a 82,1	157,7
<i>Acrocomia aculeata</i>	Folhas	1000 a 500	94,5 a 93,7	168,2
<i>Alternanthera sp. Forssk</i>	Folhas	1000 a 500	92,7 a 42,6	584,8
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	1000 a 250	81,7 a 78,4	164,6
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	1000 a 250	90,8 a 83,9	113,6
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	1000 a 125	96,0 a 83,6	93,24
	Raiz	1000 a 125	93,5 a 85,1	93,19
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	1000 a 62,5	92,4 a 83,5	50,63
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	100 a 250	96,5 a 55,9	234,9
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	1000 a 500	94,7 a 79,6	357,3
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	1000 a 250	83,3 a 32,5	368,2
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	1000 a 500	53,9 a 33,2	480,8
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	1000 a 250	93,4 a 88,6	167,6

Fc = faixa de concentrações ativas (diferenças significativas em $p < 0,05$, intervalo de confiança de 95% comparada aos respectivos controles negativos ou viabilidades); Rc = redução da viabilidade celular observada para a maior e menor concentração ativa do extrato; IC₅₀ = Concentração que inibe 50% das células. Os resultados apresentam a avaliação de três experimentos independentes realizados em triplicata.

O extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus* foi o mais tóxico dos extratos avaliados. A faixa de concentração tóxica para este extrato foi de 1000 a 62,5 µg/mL, com percentual de morte celular variando de 92,4% a 83,5%, e IC₅₀ de 50,63 µg/mL (Figura 11; Tabela 8). O baixo valor de IC₅₀ e a alta letalidade frente às células L929 mostra que o extrato apresentou maior toxicidade entre os avaliados. Considerando estes resultados e que a espécie é utilizada na medicina popular como anti-inflamatório, antibacteriano, adstringente, agente cicatrizante e no tratamento de úlceras e infecções (ROSAL *et al.*, 2007; SILVÉRIO *et al.*, 2008; MESSIAS *et al.*, 2015), torna-se importante investigar mais detalhadamente a toxicidade desta espécie, visto que pode representar risco a saúde de quem a utiliza, caso os metabólitos tóxicos presentes na planta permaneçam após a preparação para uso na medicina popular e estejam presentes em concentrações tóxicas.

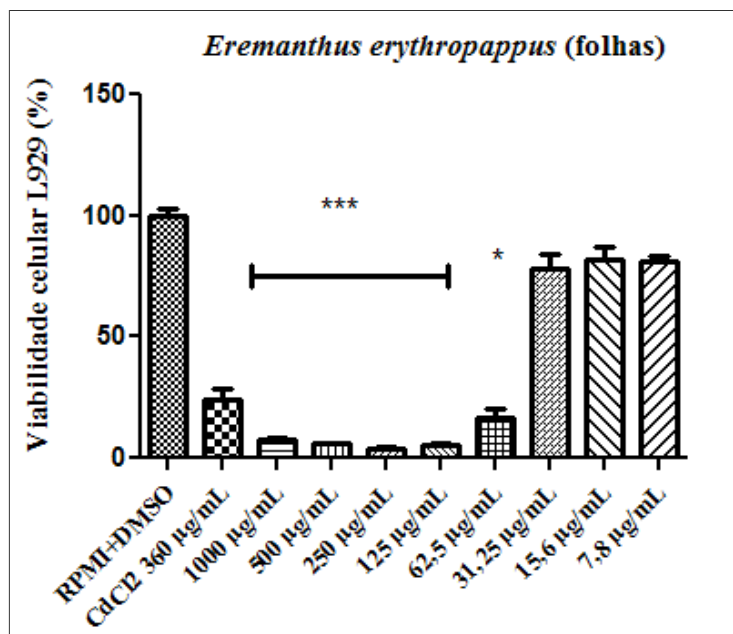


Figura 11:
citotoxicidade do
das folhas de

erythropappus sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (**) e (***) correspondem as diferenças significativas com $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%

Avaliação da
extrato etanólico
Eremanthus

Corroborando os resultados aqui apresentados, Sousa *et al.* (2008) ao avaliarem o óleo essencial das folhas de *E. erythropappus* em camundongos (*in vivo*), observaram uma toxicidade com uma DL_{50} de 2,90 g/Kg. A fração butanólica obtida do extrato etanólico das flores e caule desta espécie demonstrou toxicidade sobre as ninfas de *Oncopeltus fasciatus*

(Dallas) (Hemiptera), ocasionando 20% de morte destas ninfas (BABOSA *et al.*, 2012). O extrato diclorometânico das folhas desta espécie segundo Soares & Fabri (2011) foi tóxico para *Artemia salina*, apresentando uma CL_{50} de 64,7 µg/mL. Semelhantemente ao estudo anterior, o óleo essencial das folhas jovens e adultas de *E. erythropappus* também exibiu toxicidade para *A. salina*, com CL_{50} de 9,60 e 9,25 µg/mL, cerca de 52 vezes mais potentes que o timol ($CL_{50} = 480,20$ µg/mL). A caracterização dos constituintes químicos deste óleo essencial revelou a presença de monoterpenóides e sesquiterpenóides (SOUSA *et al.*, 2008b). Estes constituintes têm origem biossintética comum a de esteróides e triterpenos, que também foram identificados no extrato das folhas desta espécie avaliada no presente estudo (Tabela 1 – Anexo B). Assim, os resultados aqui apresentados estão de acordo com os da literatura e a toxicidade apresentada pode estar relacionada com a presença desta classe de metabólito secundário, uma vez que para o gênero *Eremanthus* é relatada a presença de lactonas sesquiterpênicas (LST) (VICHNEWSKI *et al.*, 1999; BOHLMANN *et al.*, 1980;

VICHNEWSKI *et al.*, 1977), que são altamente tóxicas, tendo sua dose terapêutica bem próxima da tóxica (PICMAN1986; SCHMIDT, 1999).

Os extratos etanólico das partes aéreas e raízes de *C. ovalifolia* apresentaram citotoxicidade nas concentrações de 1000 a 125 µg/mL, com percentual de morte celular de L929 variando de 96,0% a 83,6% e 93,5% a 85,1%, respectivamente. A IC₅₀ para o extrato das partes aéreas foi de 93,24 µg/mL e de 93,19 µg/mL para o extrato da raiz (Figura 12; Tabela 8). Esse foi o segundo extrato com maior toxicidade entre os avaliados.

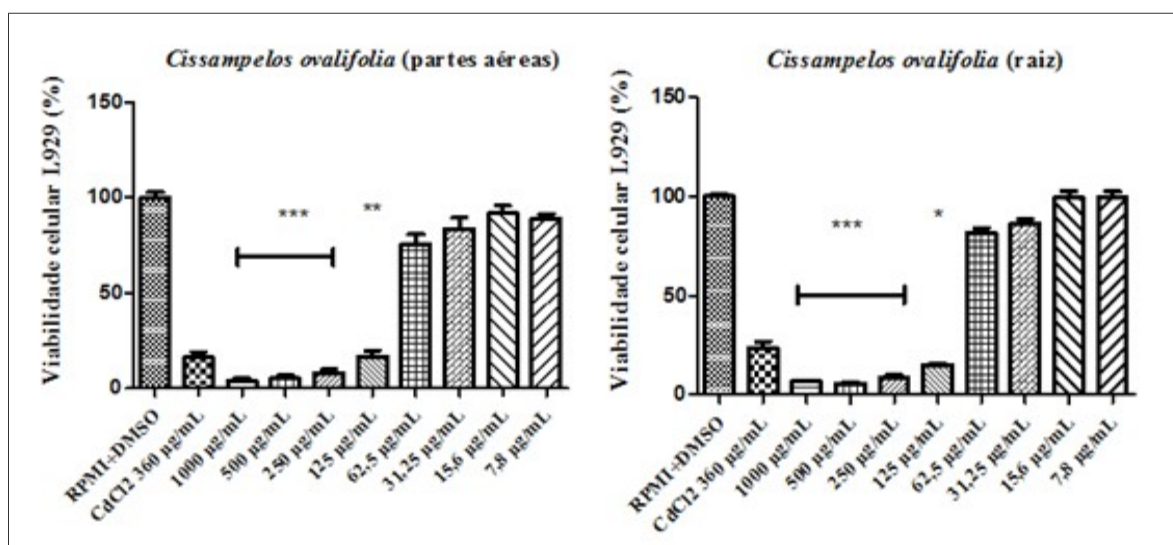


Figura 12: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas e raiz de *Cissampelos ovalifolia* sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (*), (**) e (***) correspondem as diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%

Tempone *et al.* (2005) avaliaram a citotoxicidade do extrato etanólico e da fração de alcalóide das folhas de *C. ovalifolia* contra células de mamíferos (RAW 264.7) e encontraram valores de EC₅₀ de 50,94 e 42,52 µg/mL, respectivamente. Esses dados revelam também uma significativa citotoxicidade, como observado no presente estudo para ambas as partes avaliadas. Além do mais, a maior toxicidade observada para as raízes de *C. ovalifolia* pode estar associada à presença de alcalóides encontrados neste extrato (Tabela 1 – Anexo B), semelhante ao que foi verificado no estudo citado acima e em outros estudos, que mostraram que alcalóides foram tóxicos (REZA & ABBAS, 2007; GU *et al.*, 2015). Os alcalóides harmane, harmine, harmalol e harmaline exibiram toxicidade pronunciada frente *A. salina*, com valores de CL₅₀ de 50 µg/mL, 23,74 µg/mL, 9,88 µg/mL e 23 µg/mL, respectivamente (REZA & ABBAS, 2007). A berberina, um alcalóide isoquinolínico, diminuiu

significativamente a viabilidade de células de fibroblastos murinos (L929) de uma forma dependente da dose, em concentrações superiores a 0,05 mg/mL e, alterou a morfologia destas células em uma concentração superior a 0,1 mg/mL (GU *et al.*, 2015).

Diante do exposto, a análise mais aprofundada desta espécie é importante, considerando seu potencial tóxico e que a mesma é utilizada popularmente como diurética, sudorífica, antifebril, tônico e narcótico (RODRIGUES & CARVALHO, 2001; GIORGETTI *et al.*, 2011).

O extrato etanólico das folhas de *C. adamantium* foi citotóxico na faixa de concentração de 1000 a 250 µg/mL com percentual de morte celular variando de 90,8% a 83,9% e IC₅₀ de 113,6 µg/mL (Figura 13; Tabela 8), representado o terceiro extrato com maior toxicidade associada.

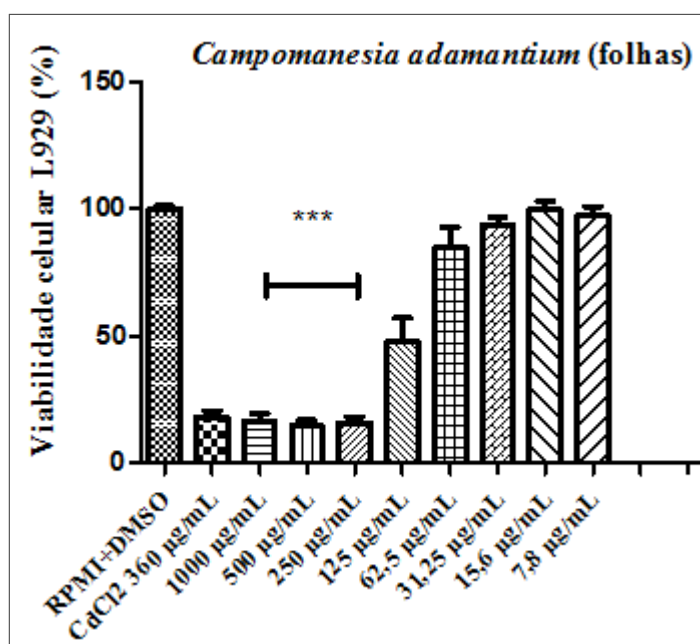


Figura 13: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *Campomanesia adamantium* sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (***) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,0001$, considerando intervalo de confiança de 95%.

Semelhantemente ao presente estudo, os extratos etanólicos das folhas e dos galhos de *C. adamantium* apresentaram toxicidade frente à *Artemia salina*, com valores de CL₅₀ de 0,106 e 0,065 µg/mL, respectivamente (SALVADOR *et al.*, 2015). Extrato acetato de etila das folhas desta mesma espécie, na concentração de 640 µg/mL, reduziu significativamente a

viabilidade de macrófagos J774 (FERREIRA *et al.*, 2013). Entretanto, o extrato hexânico das folhas de *C. adamantium* não demonstrou toxicidade sobre *A. salina*, pois não houve mortalidade destes microcrustáceos na concentração de 2 mg/mL (RAMOS *et al.*, 2007). Segundo Martello *et al.* (2015) a exposição em curto prazo ao extrato hidro-etanólico das folhas de *C. adamantium* pode causar danos potencialmente irreparáveis ao DNA, levando à morte celular. Contudo, Souza *et al.* (2016) mostraram que o extrato hidroalcoólico da casca da fruta de *C. adamantium* não foi capaz de provocar sinais clínicos de toxicidade em animais durante a exposição aguda e sub-aguda.

Esta espécie é utilizada popularmente para tratar disenteria, problemas do estômago, febre, como antisséptica das vias urinárias, anti-inflamatória, para tratar gripe e na recomposição da flora intestinal (KATAOKA *et al.*, 2008; RAMOS *et al.*, 2007). Assim, baseado nos dados do presente estudo e de pesquisas anteriores, e nos resultados divergentes empregando distintos modelos experimentais, é preciso avaliar esta espécie com mais critério, visto que seu uso indiscriminado poderia causar toxicidade, levando a problemas de saúde.

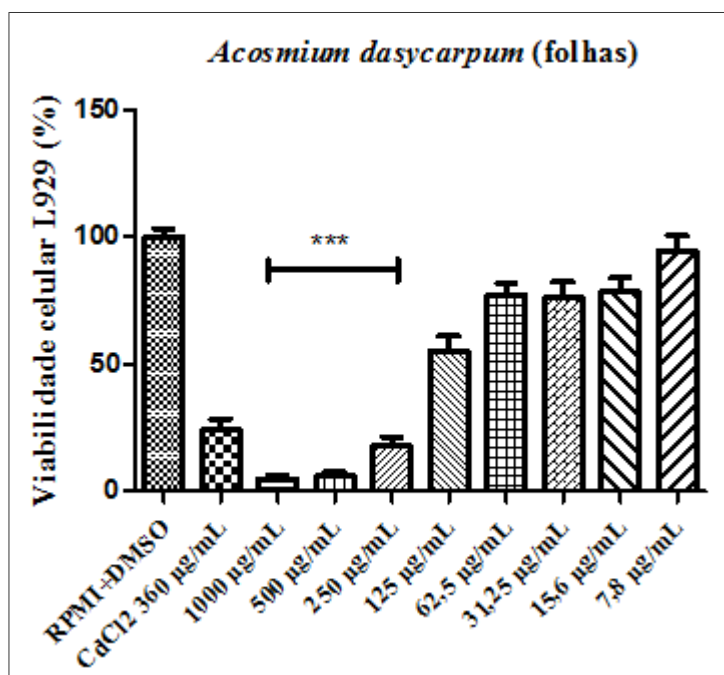
O extrato desta espécie apresentou em sua triagem fitoquímica terpenóides, flavonóides, taninos e saponinas (Tabela 1 – Anexo B) e estas classes têm sido registradas na literatura por apresentarem potencial tóxico (SANTOS *et al.*, 2009; MONTEIRO *et al.*, 2005; DAVID *et al.*, 2004; GEORGE *et al.*, 1965). Dessa forma, a citotoxicidade observada para o extrato etanólico das folhas de *C. adamantium* pode estar relacionada com a presença de tais classes.

O extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum* foi ativo na faixa de concentração de 1000 a 250 µg/mL sobre a linhagem L929, com redução da viabilidade celular variando de 95,0% a 82,1% e IC₅₀ de 157,7 µg/mL (Figura 14, Tabela 8), representando o quarto extrato mais tóxico para fibroblastos.

Machado *et al.* (2007) investigaram a toxicidade da fração de acetato de etila e do extrato metanólico das folhas de *A. dasycarpum* contra *A. salina* e encontraram uma DL₅₀ de 200 e 250 µg/mL, respectivamente. Esta espécie vegetal é uma das utilizadas por povos indígenas para fazer o Krahô, que é uma bebida feita com a sua casca, extremamente amarga e rica em tanino, usada como abortivo, por ter a capacidade de expulsar o embrião (RODRIGUES *et al.*, 2007). Os dados da triagem fitoquímica desta espécie também revelaram a presença de taninos (Tabela 1 – Anexo B), que também têm sido reportados na

literatura por apresentarem elevada toxicidade (CHUNG *et al.*, 1998; MONTEIRO *et al.*, 2005).

Figura 14: citotoxicidade do das folhas de *dasycarpum* sobre resultados foram média do percentual celular \pm desvio experimentos, triplicata e estes com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (***) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,0001$, considerando intervalo de confiança de 95%.



Avaliação da extrato etanólico *Acosmium* L929. Os expressos como de viabilidade padrão de três realizados em foram comparados

Ainda, a triagem fitoquímica desta espécie revelou a presença de alcalóides, terpenóides, flavonóides (Tabela 1 – Anexo B), que são metabólitos com propriedades tóxicas, inclusive, são relatados por exibirem toxicidade em espécies da mesma família botânica que *A. dasycarpum*. Exemplo disto é que alcalóides quinolizidínicos obtidos de espécies de *Lupinus* (Fabaceae) exibiram toxicidade sobre sistema nervoso central de ratos (MOMNTEÓN, 2000). Em outro estudo, os extratos orgânicos das folhas e galhos de *Caesalpinia pyramidalis* (Fabaceae) foram tóxicos contra o microcrustáceo *A. salina* e em sua análise fitoquímica também foram encontrados taninos, flavonóides e terpenóides (FRANCA *et al.*, 2013). Dessa forma, estes dados confirmam a toxicidade observada para esta espécie frente às células L929.

Na medicina popular esta espécie é utilizada como tranquilizante, hipotensor, antineoplásico, antisifílico, antireumático e no tratamento de afecções cutâneas (TREVISAN, 2002; RODRIGUES, 1996 apud SOUSA-JUNIOR *et al.*, 2009). Devido a estas inúmeras utilizações e diante dos dados que indicam ser uma espécie com expressiva citotoxicidade, são necessários estudos mais aprofundados para que seu uso pela população se faça de maneira consciente e segura.

O extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* foi citotóxico na faixa de concentração de 1000 a 250 $\mu\text{g/mL}$ sobre L929, com redução da viabilidade celular variando de 81,7% a 78,4% e IC_{50} de 164,6 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 15; Tabela 8). Esta é uma espécie utilizada pela sua potencial ação anestésica e analgésica (SOUZA & GRAEL, 2014), mas o fato de ser tóxica como pode ser verificado pelos dados de seu extrato frente às células L929, mostra que a mesma pode apresentar um risco à saúde dependendo da sua forma de utilização.

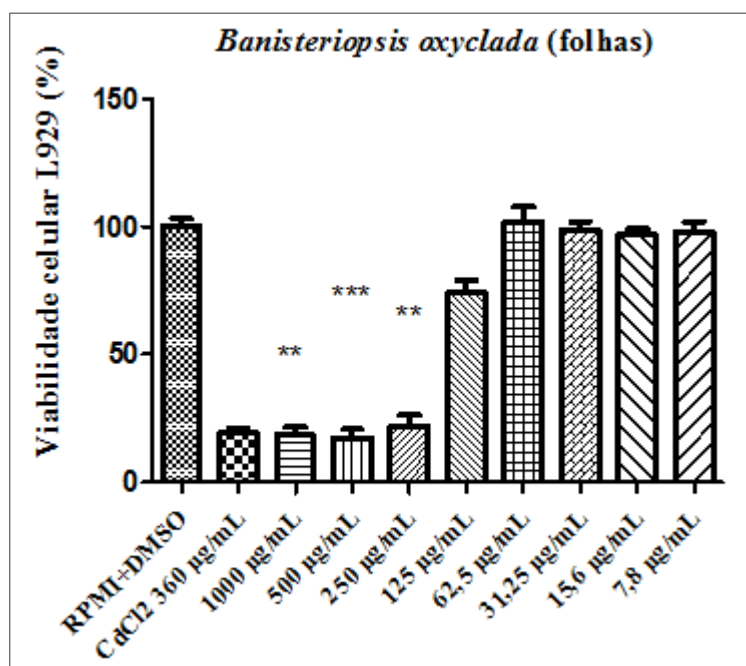


Figura 15: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *Banisteriopsis oxyclada* sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (**) e (***) correspondem as diferenças significativas com $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Esta espécie possui poucos estudos científicos, entretanto os extratos etanólicos obtidos de seus frutos e folhas foram descritos por apresentarem efeito fitotóxico sobre o crescimento da raiz e das partes aéreas de amendoim bravo e sobre o crescimento radicular de capim-arroz (ANESE *et al.*, 2016). Todavia, espécies do mesmo gênero são descritas por

apresentarem toxicidade, como pode ser observado para a substância, 8-dihidroxi-6-metoxi-7-metil-9,10-diidrofenantreno-1-carbaldeído isolada de *Banisteriopsis anisandra* (A. Juss) B. Gates, que foi citotóxica frente às linhagens celulares MeWo (células de melanoma humano) e CHO (células normais de ovário de hamster chinês), com IC₅₀ de 5,1 e 6,4 µg/mL, respectivamente (FREITAS *et al.*, 2010). O extrato aquoso das folhas de *Banisteriopsis variabilis* apresentou concentração máxima não tóxica acima de 625 µg/mL para células VERO e entre 624 e 125 µg/mL para células MDBK e RK-13 (SIMONI *et al.*, 2007).

Terpenóides, flavonóides, taninos e saponinas foram encontrados no extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* (Tabela 1 – Anexo B). Estas classes de metabólitos secundários também são encontradas em espécies de sua mesma família botânica, que apresentam citotoxicidade. Como exemplo, foi verificado que os extratos etanólicos das folhas de *Byrsonima verbascifolia* e *Byrsonima coccolobifolia*, ambas da família Malpighiaceae, foram citotóxicos sobre células de rim fetal de macaco verde africano (MA-104). Nos extratos das duas espécies foram encontrados as classes de metabólitos taninos, flavonóides, terpenóides e saponinas (SANNOMIYA *et al.*, 2004; CECÍLIO, *et al.*, 2012). Para o extrato bruto de *Byrsonima verbascifolia* também foi verificado citotoxicidade para células MA-104 nas concentrações de 5000 µg/mL e 500 µg/mL, que ocasionou em alterações morfológicas das células. A análise fitoquímica do extrato desta espécie também revelou a presença de flavonóides, terpenóides, taninos e saponinas. Nesse sentido, a toxicidade observada para o extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada*, pode também estar correlacionada com a presença destes metabólitos que foram evidenciados na triagem fitoquímica.

O extrato etanólico de toda espécie *T. cathartica* foi ativo sobre células L929 na faixa de concentração de 1000 a 250 µg/mL, com redução da viabilidade celular variando de 93,4% a 88,6% e IC₅₀ de 167,6 µg/mL (Figura 16; Tabela 8).

Para esta espécie não foram encontrados estudos que descrevam seu emprego na medicina popular. Também não foram encontrados estudos de avaliação da citotoxicidade para outras espécies deste gênero. Contudo, espécies pertencentes a sua família botânica (Iridaceae) são reportadas por serem tóxicas. Como exemplo, pode-se citar o extrato aquoso da pétala de *Crocus sativus* (Iridaceae), que após 24 horas mostrou efeitos inibidores do crescimento em concentrações superiores a 200 µg/mL para células de fibroblastos de ratos (L929). O aumento significativo dos efeitos inibidores deste extrato foi evidenciado em concentrações de 400 e 800 µg/mL, mostrando que o efeito inibitório é dependente da dose

(FEIZZADEH *et al.*, 2008). Extratos aquosos e orgânicos do bulbo de *Gladiolus watsonoides* Baker (Iridaceae) e *Gladiolus newii* Baker (Iridaceae) também foram tóxicos para *A. salina* com DL₅₀ de 27,5, 6,5 µg/mL e 9,3 e 3,1 µg/mL, respectivamente (ODHIAMBO, 2015).

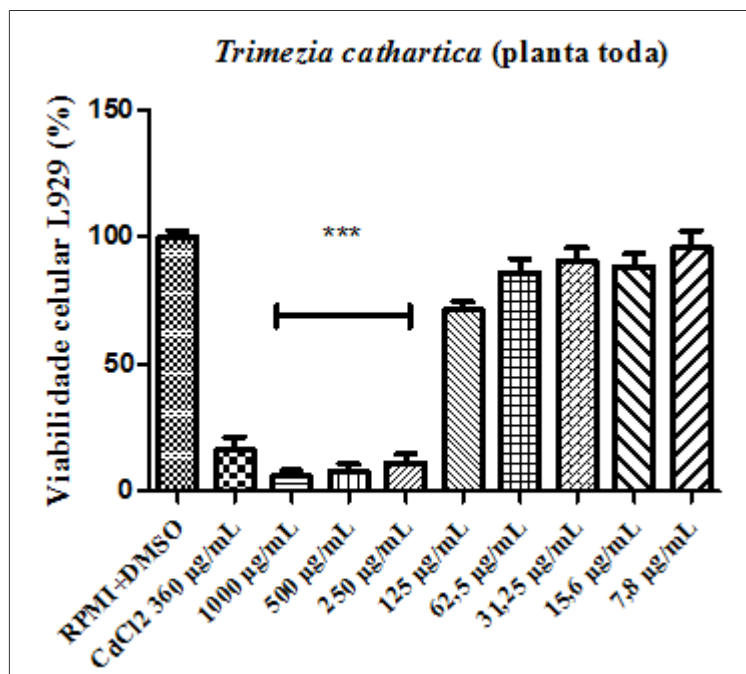


Figura 16: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de toda espécie *Trimezia cathartica* sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (***) corresponde a diferenças significativa com $p \leq 0,0001$, considerando intervalo de confiança de 95%.

A citotoxicidade atribuída ao extrato etanólico da planta inteira de *T. cathartica* pode ser devido à presença de flavonóides encontrados em sua triagem fitoquímica (Tabela 1 – Anexo B). Estes metabólitos são citados na literatura por possuírem potencial tóxico frente a *A. salina*, em ratos, em hepatócitos de camundongos, em células da medula óssea de ratos Wistar (LIMA *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2009; MEOTTI, 2006; VERMA *et al.*, 2013; PORTO *et al.*, 2013), dentre outros.

O extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* apresentou citotoxicidade na concentração de 1000 e 500 µg/mL, com redução da viabilidade celular de L929 de 94,5% e 93,7%, respectivamente, e IC₅₀ de 168,2 µg/mL (Figura 17; Tabela 8).

Os povos indígenas utilizavam a polpa de *A. aculeata* para dores de cabeça, nevralgias, como purgativa e para tratamento de afecções das vias respiratórias (ALMEIDA *et al.*, 1998). Além disso, esta espécie pode ser utilizada para tratamento de artrite, problemas dos ossos e

nervos (SARAIVA *et al.*, 2015), sendo necessário a investigação mais aprofundada de sua toxicidade para garantia de segurança quanto a seu uso.

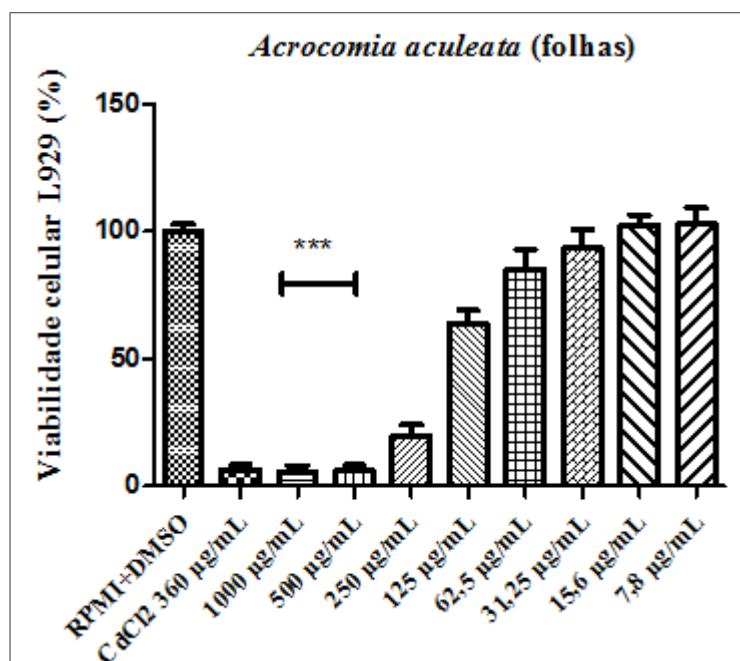


Figura 17: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *Acrocomia aculeata* sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (***) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,0001$, considerando intervalo de confiança de 95%.

Segundo Traesel *et al.* (2015) o tratamento por via oral de ratos Wistar machos e fêmeas, com óleo essencial dos frutos de *A. aculeata* (OPAC) não foi capaz de aumentar a frequência ou a taxa de danos ao DNA em grupos tratados com qualquer uma das concentrações avaliadas (doses variando de 125 a 2000 mg/Kg/peso corporal) quando comparada com a do grupo de controle negativo. No teste de micronúcleos, os ratos tratados não apresentaram quaisquer alterações mutagênicas ou citotóxicas em eritrócitos do sangue periférico, demonstrando que OPAC não apresenta efeitos citotóxicos, genotóxicos ou mutagênicos em ratos Wistar. Em outro estudo avaliou-se o perfil toxicológico do óleo essencial extraído dos frutos maduros de *A. aculeata* (OPAC), por meio de testes de toxicidade aguda e subaguda em ratos machos e fêmeas (Wistar) que receberam 2000 mg/kg de OPAC para o teste de toxicidade aguda e 125, 250, 500 ou 1000 mg/kg de OPAC para ensaio de toxicidade subaguda. Para este primeiro teste não foram observadas alterações comportamentais ou mortalidade em ratos tratados com 2000 mg/kg, indicando que a DL_{50} é

superior a esta dose. Já para o segundo, as doses testadas não produziram alterações significativas em parâmetros hematológicos, bioquímicos e histopatológicos nos animais expostos, o que demonstram a ausência de toxicidade aguda e subaguda após do OPAC para ratos (TRAESSEL *et al.*, 2014). Silva *et al.* (2012) não encontraram nenhum sinal de toxicidade pelo teste de toxicidade aguda com dose de 3 g/kg ou pelo ensaio de citotoxicidade em linhagem celular de porco (LLC- PK1) com concentrações de 5 µg/mL, 50 µg/mL, 250 µg/mL e 500 µg/mL dos óleos extraídos da amêndoa e fruto de *A. aculeata*. O óleo extraído da polpa/amêndoa de *A. aculeata* não apresentou citotoxicidade à linhagem de células renais epiteliais originalmente derivadas de rins de porco (LLC-PK 1) (TRAESSEL *et al.*, 2015; TRAESSEL *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2012; MAGOSSO *et al.*, 2015).

O fato de estes estudos terem utilizado óleo essencial proveniente de partes diferentes de *A. aculeata* das usadas no presente estudo, bem como o modelo experimental ter sido distinto do apresentado neste estudo, podem explicar a diferença nos resultados encontrados.

Cumarinas, flavonóides e taninos são reportados por apresentaram toxicidade (ALVES, 2015; ALMEIDA, 2006; GONÇALVES *et al.*, 2011; ARAÚJO *et al.*, 2013; MATSUO *et al.*, 2005). Estas classes de metabólitos foram identificadas no extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* (Tabela 1 – Anexo B), podendo ser as responsáveis pela citotoxicidade observada para este extrato.

O extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum* foi tóxico sobre L929 na faixa de concentração de 1000 a 250 µg/mL, com redução da viabilidade celular variando de 96,5% a 55,9% e IC₅₀ de 234,9 µg/mL (Figura 18; Tabela 8).

Segundo Simões *et al.* (1999), o extrato hidrometanólico das partes aéreas de *E. horridum*, apresentou concentração máxima tolerada (MTC) de 500 µg/mL e CC₅₀ de 1000 µg/mL quando testado em células VERO. Estes dados mostram que o extrato não foi muito citotóxico, contudo comparações destes dados com os do presente estudo são difíceis, considerando que os modelos experimentais empregados são distintos e que foram utilizados diferentes solventes para a preparação dos extratos, o que pode ter levado a diferenças qualitativas e quantitativas no conteúdo de metabólitos secundários responsáveis pela toxicidade.

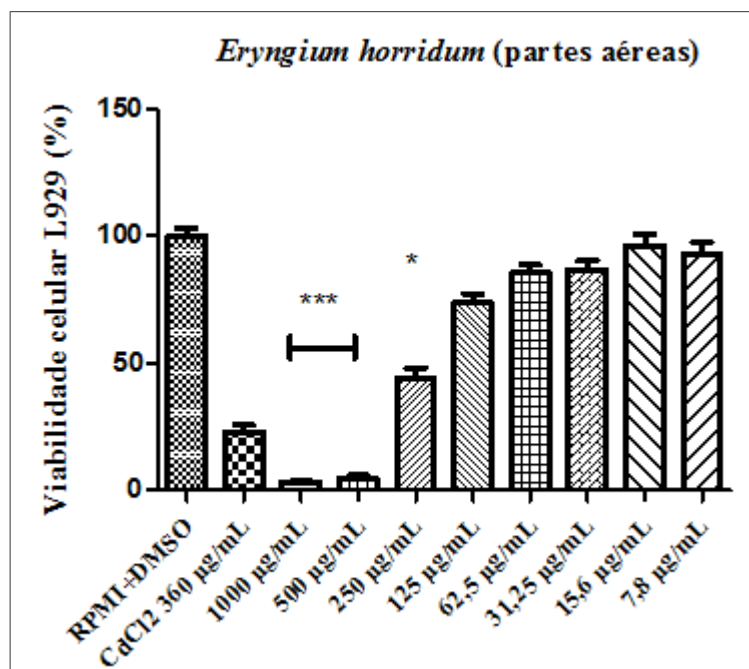


Figura 18: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas de *Eryngium horridum* sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (*) e (***) correspondem as diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Outras espécies do gênero *Eryngium* apresentaram citotoxicidade. Exemplificando, dois compostos (sesquiterpeno e terpeno) isolados de *Eryngium foetidum* foram citotóxicos para mioblastos de ratos (L6) (ROJAS-SILVA *et al.*, 2014). Estes compostos pertencem à classe dos terpenóides que foram encontradas no extrato etanólico das folhas de *E. horridum* (Tabela 1 – Anexo B), assim pode ser a responsável pela toxicidade do mesmo.

Saponinas, sejam elas triterpênicas ou esteroidais, são comumente encontradas em espécies do gênero *Eryngium*, como *Eryngium yuccifolium*, *Eryngium kotschyi*, *Eryngium planum*, *Eryngium maritimum* (ERDEM *et al.*, 2015a; ERDEM *et al.*, 2015b, ZHANG *et al.*, 2008). A esta classe de metabólito estão associadas propriedades tóxicas (TONG *et al.*, 2012; SÁNCHEZ-MEDINA *et al.*, 2009). Dessa forma, estas também podem ter contribuído para citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum*, visto que foram encontrados na triagem fitoquímica de seu extrato (Tabela 1 – Anexo B).

O extrato etanólico das folhas de *P. rigida* foi citotóxico nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, com redução da viabilidade celular de L929 de 94,7% e 79,6%, respectivamente, e IC₅₀ de 357,3 µg/mL (Figura 19; Tabela 8)

A triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *P. rigida* revelou a presença de alcalóide (Tabela 1 - Anexo B). Este metabólito é descrito por apresentar toxicidade em espécies de sua família botânica, Rubiaceae. Por exemplo, o extrato etanólico do caule de *Pogonopus tubulosus* revelou alto potencial tóxico frente à *A. salina*, com DL_{50} de 37,59 $\mu\text{g/mL}$. Uma vez que foram detectados alcalóides neste extrato foi realizada uma extração ácido/base do extrato bruto, obtendo-se as frações alcaloídica e não-alcaloídica, ficando a toxicidade frente à *A. salina* concentrada na primeira (DL_{50} = 6,89 $\mu\text{g/mL}$ e 727,38 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) (PORTELA *et al.*, 2012). A fração alcaloídica desta mesma espécie teve sua citotoxicidade avaliada no teste da mancha da asa de *Drosophila melanogaster* (SMART-Somatic Mutation and Recobination Test), sendo citotóxica em todas as concentrações testadas (ZANETTI *et al.*, 2015). Portanto, a toxicidade observada para células L929 no presente estudo pode ser devido à presença desta classe de metabólito secundário, além de terpenóides, taninos, saponinas e cumarinas que também foram identificados e que possuem propriedades tóxicas, como relatadas anteriormente.

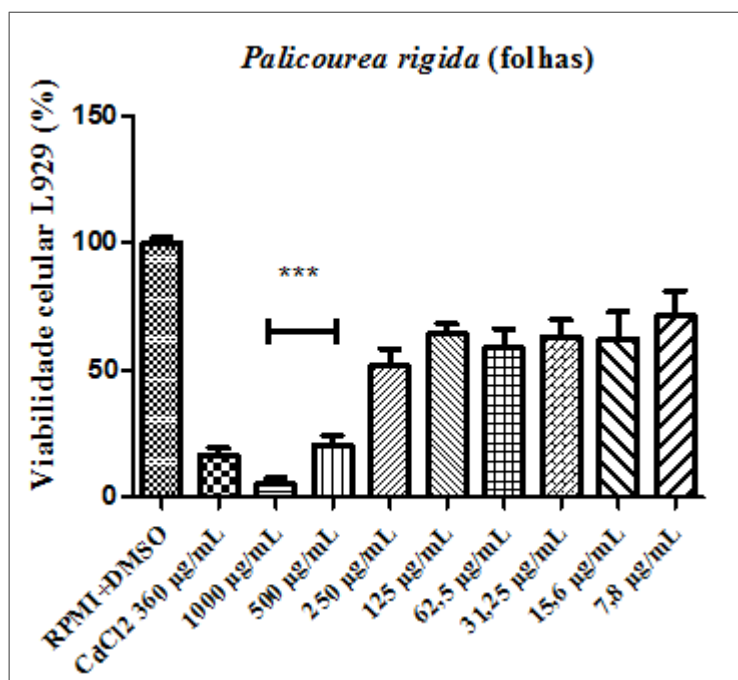


Figura 19: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *Palicourea rigida* sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (***) corresponde a diferença significativas com $p \leq 0,0001$, considerando intervalo de confiança de 95%.

Entretanto, em outros estudos realizados com esta mesma espécie vegetal não foi observada a presença de toxicidade. No estudo realizado por Lima *et al.* (2015), não foi observada toxicidade frente a *A. salina* para o extrato bruto etanólico das folhas de *P. rigida* oriunda do Mato Grosso do Sul. Em outro estudo este mesmo extrato da espécie oriunda de São João Del Rei/MG não foi tóxico para animais, pois apresentou DL₅₀ acima da maior dose utilizada (3,0 g/Kg) (MORAES *et al.*, 2013). Contudo, o fato dos modelos experimentais e a região de coleta da planta serem diferentes do presente estudo, pode explicar a ausência de toxicidade diferentemente do observado na presente investigação.

P. rigida tem seu uso descrito popularmente para tratamento de hepatite, malária, infecções fúngicas, doenças renais, infecções do aparelho feminino, tosses, dores de estômago, depurativo e como anti-inflamatório (ROSA, 2016; RODRIGUES & CARVALHO, 2007; SOUZA *et al.*, 2013; HIRSCHMANN & ARIAS, 1990). Diante destas várias propriedades medicinais e da presença de metabólitos tóxicos que foram verificados em sua constituição química, o seu uso indiscriminado pode representar riscos de saúde, destacando a grande importância de estudos mais detalhados quanto a sua citotoxicidade e atividades.

O extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa* apresentou toxicidade na faixa de concentração de 1000 a 250 µg/mL, com redução da viabilidade celular sobre L929 variando de 83,3% a 32,5 % e IC₅₀ de 368,2 µg/mL (Figura 20; Tabela 8).

Não foram encontrados estudos na literatura de investigação da toxicidade desta espécie e de outras deste mesmo gênero. Contudo, espécies pertencentes à mesma família botânica (Malpighiaceae) de *P. tomentosa* têm demonstrado toxicidade. O composto 2,8-di-hidroxi-6-metoxi-7-metil-9,10-dihydrophenanthrene-1-carbaldeído, isolado das raízes de *Banisteriopsis anisandra*, apresentou citotoxicidade frente a células de ovário de hamster chinês (CHO), com IC₅₀ de 6,0 µg/mL (FREITAS *et al.*, 2015). Os extratos etanólicos das partes aéreas de *Byrsonima dealbata* e *Byrsonima verbascifolia* apresentaram toxicidade sobre células L929, com IC₅₀ de 336,8 e 120,6 µg/mL, respectivamente. Já os extratos das folhas e caule de *Byrsonima lancifolia*, também foram tóxicos para esta linhagem de células, apresentando valores de IC₅₀ de 217,6 µg/mL e 161,1 µg/mL, respectivamente (OLIVEIRA, 2016).

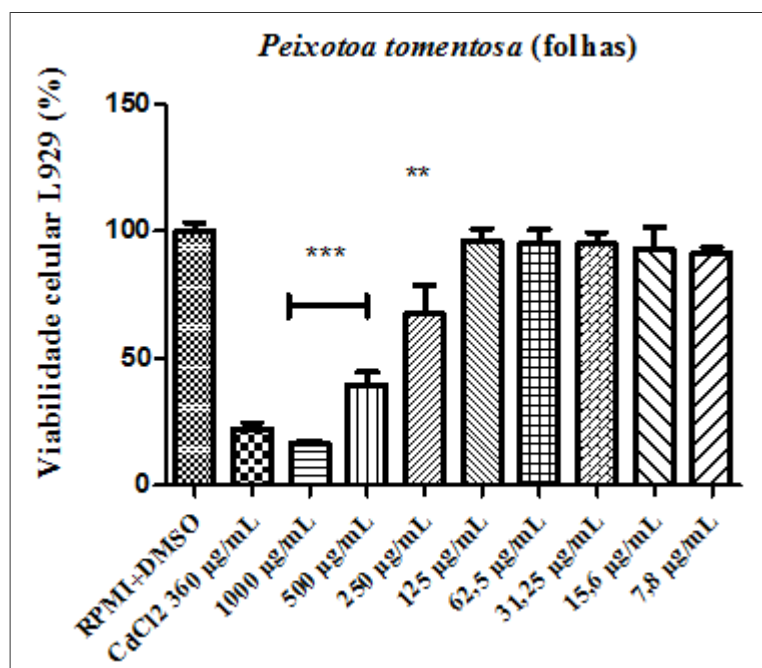


Figura 20:
citotoxicidade do
das folhas de

tomentosa sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (**) e (***) correspondem as diferenças significativas com $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Avaliação da
extrato etanólico
Peixotoa

Outras duas espécies pertencentes à família Malpighiaceae, *Byrsonima verbascifolia* e *Byrsonima coccolobifolia*, apresentaram citotoxicidade sobre células MA-104, sendo que taninos, flavonóides, terpenóides e saponinas foram identificados em ambos os extratos avaliados (SANNOMIYA *et al.*, 2004; CECÍLIO, *et al.*, 2012). Semelhantemente a estes resultados, no extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa* estas classes de metabólitos secundários também estavam presentes (Tabela 1 – Anexo B), podendo ser as responsáveis pela citotoxicidade frente a linhagem L929.

O extrato etanólico das folhas de *S. rugosa* exibiu citotoxicidade na concentrações de 1000 a 500 µg/mL, com redução da viabilidade celular de L929, de 53,9% e 33,2%, respectivamente, e IC₅₀ de 480,8 µg/mL (Figura 21; Tabela 8).

Não foi detectada toxicidade aguda para o extrato aquoso da casca de *S. rugosa* em camundongos (FARIAS *et al.*, 2010). Contudo, o fato de ter utilizado um modelo *in vivo*, parte vegetal e solvente diferentes, podem explicar a ausência de toxicidade de *S. rugosa* neste estudo.

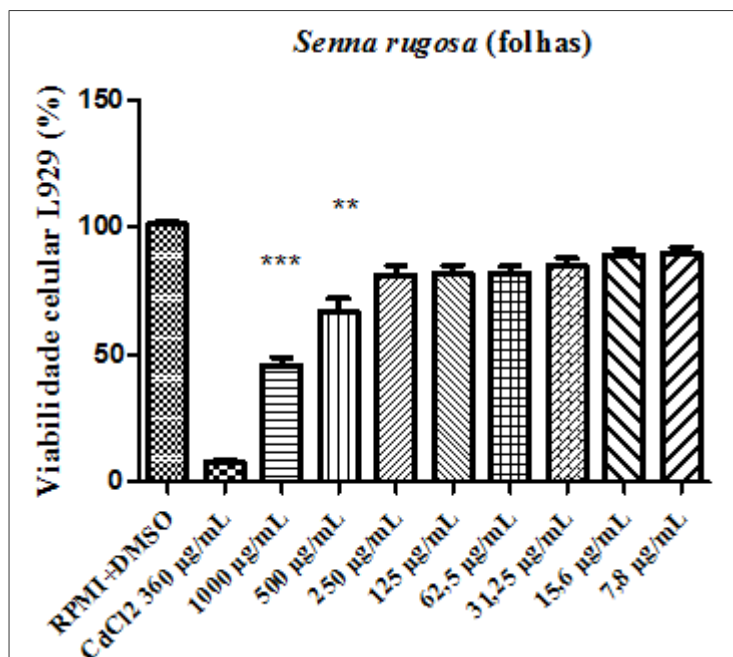


Figura 21: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *Senna rugosa* sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (**) e (***) correspondem as diferenças significativas com $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Já outras espécies do gênero *Senna* são descritas por apresentarem toxicidade. O extrato etanólico das folhas de *Senna obtusifolia* e *Senna alata* provocaram efeitos tóxicos acentuados em ratos (YAGI *et al.*, 1998). Extrato etanólico das folhas de *Senna siamea* exibiu citotoxicidade frente *A. salina* com LC_{50} 68,63 $\mu\text{g/mL}$ (MOMIN *et al.*, 2012). *Senna occidentalis* é uma espécie tóxica, sendo esta toxicidade atribuída à presença de diantrona, uma antraquinona, encontrada em maior concentração em suas sementes (SPINOSA *et al.*, 2008), que acarreta o desacoplamento da fosforilação oxidativa mitocondrial (YADAV *et al.*, 2010). Esta toxicidade foi confirmada por Santos (2015c) que observou redução de peso corpóreo e piloereção e comportamento sugestivo de ansiedade, em ratos submetidos a diferentes concentrações destas sementes em sua ração por 28 e 90 dias. De acordo com Teles *et al.* (2016), a administração crônica das sementes de *S. occidentalis* em órgãos hematopoiéticos de ratos, incluindo a medula óssea e baço, promoveu a hematotoxicidade.

Antraquinona, responsável pela toxicidade de *S. occidentalis*, também foi encontrada na triagem fitoquímica de *S. rugosa*, além de outros metabólitos, como taninos, flavonoides e terpenóides (Tabela 1 – Anexo B), que também apresentam toxicidade. Nesse contexto, a

citotoxicidade que este extrato apresentou para a linhagem celular L929, pode estar associada à presença de tais metabólitos em sua composição.

Os dados de citotoxicidade demonstram que esta espécie não apresenta toxicidade tão significativa, contudo estudos sobre seu potencial tóxico são válidos e necessários, para que a mesma possa continuar sendo utilizada na medicina popular como vermífugo, antídoto contra mordida de cobra (RODRIGUES & CARVALHO, 2001), no tratamento de gripes e rouquidão (VILA VERDE *et al.*, 2003), em todas concentrações e formas possíveis, que não ofereçam risco a saúde humana.

O extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk. foi o que apresentou menor citotoxicidade frente às células L929. Este foi tóxico nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, com redução da viabilidade de 92,7% e 42,6%, respectivamente, e IC₅₀ de 584,8 µg/mL (Figura 22; Tabela 8).

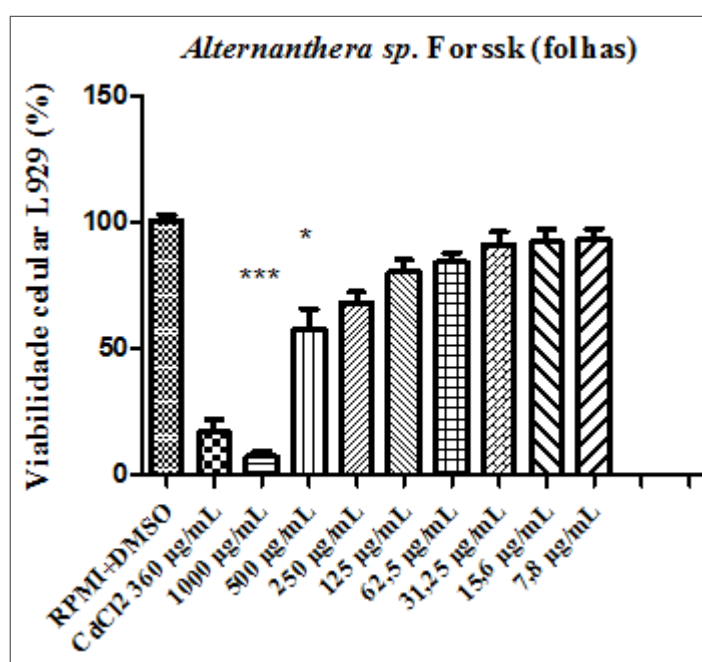


Figura 22: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk. sobre L929. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (RPMI+DMSO). (*) e (***) correspondem as diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Estudos mostram que algumas espécies de *Alternanthera* exibem toxicidade pronunciada e outras não, semelhante a avaliada no presente estudo. Como exemplo, o extrato metanólico das folhas de *Alternanthera sessilis* ao ser avaliado contra uma linha celular de

fibroblastos (Hs68), foi capaz de induzir mais de 70% de morte celular das três linhagens (GEORGE *et al.*, 2010). Uchôa (2014) mostrou que o extrato das folhas de *Alternanthera brasiliana* exibiu baixa toxicidade na concentração de 500 µg/mL sobre *A. salina*, sendo que nas concentrações abaixo de 250 µg/mL, este não apresentou toxicidade significativa. A toxicidade e mutagenicidade do extrato de *Alternanthera tenella* foram investigadas por meio do teste de micronúcleo realizando ensaio *in vitro* com dois tipos celulares: CHO-k1 (célula de hamster chinês- não metabolizadora) e HTC (hepatoma de *Rattus norvegicus*). Os resultados revelaram que as concentrações mais altas de 1000 ppm e 500 ppm apresentaram alta toxicidade nos dois tipos celulares, sendo observada mortalidade celular. A concentração de 250 ppm apresentou efeito mutagênico em células de CHOK1 (ROCHA *et al.*, 2012).

Terpenóides, flavonóides, taninos e saponinas, foram os metabólitos presentes na triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk. (Tabela 1 – Anexo B). A estas classes de metabólitos secundários são atribuídas ações tóxicas (SANNOMIYA *et al.*, 2004; GONÇALVES *et al.*, 2011; MATSUO *et al.*, 2005; TONG *et al.*, 2012), tornando-as possíveis responsáveis pela citotoxicidade observada para este extrato.

De uma maneira geral, os extratos de todas as plantas aqui avaliados apresentaram toxicidade frente a linhagem normal avaliada. Alguns foram tóxicos em doses mais elevadas. Contudo, isso não quer dizer que a espécie não possa ser utilizada pela população, recomendando-se estudos mais aprofundados com relação a toxicidade *in vivo* e *in vitro* em diferentes modelos, inclusive com o produto na forma mais semelhante ao uso popular. Estes resultados servem de alerta para a população, para que não as utilize em doses elevadas que podem ser tóxicas. Por outro lado, se o mesmo apresenta citotoxicidade, este provavelmente deve apresentar substâncias, que poderiam ser estudadas como potenciais agentes antitumorais ou que pudessem servir de protótipo para o desenvolvimento de tais agentes.

5.2.2 Avaliação da atividade antitumoral dos extratos

Com exceção do extrato etanólico das folhas de *P. rigida*, todos os demais extratos avaliados apresentaram significativa atividade antitumoral sobre a linhagem celular de câncer de mama, MDA-MB23. Os dados referentes à percentagem de morte celular, bem como a IC₅₀ para cada um dos extratos estão descritos na tabela 9. Alguns extratos apresentaram atividade

significativa contra a linhagem tumoral, com valores de IC_{50} variando de 38,47 a 624,2 $\mu\text{g/mL}$.

A eficácia foi comparada ao paclitaxel (fármaco padrão), comumente empregado no tratamento do câncer, que foi considerado como 100% de eficácia, apresentando uma redução média da viabilidade celular em $94,58 \pm 2,88$, IC_{50} de 101,7 $\mu\text{g/mL}$ e IS de 2,507. Considerando uma resposta citotóxica maior ou igual a 100% de eficácia, quando comparadas ao fármaco padrão, paclitaxel, foram identificados três extratos, incluindo o das folhas de *S. rugosa*, o das folhas de *E. erythropappus* e o das folhas de *A. aculeata*. Extratos etanólicos da raiz de *C. ovalifolia*, das partes aéreas de *E. horridum* e das folhas de *A. dasycarpum*, apresentaram eficácia entre 80% e 99%. Os extratos das folhas de *C. adamantium*, das partes aéreas de *C. ovalifolia*, das folhas de *P. tomentosa* e de toda espécie *T. cathartica*, ativos sobre as células MDA-MB-231 apresentaram eficácia entre 70% a 79%. Já os extratos das folhas de *Alternanthera* Forssk. e das folhas de *B. oxyclada* apresentaram eficácia entre 50% a 69%.

Tabela 9: Resultados da avaliação da atividade antitumoral, sobre células MDA-MB-231, dos extratos etanólico das espécies vegetais avaliadas

Atividade Antitumoral sobre MDA-MB-231						
Plantas	Parte utilizada	Faixa de Concentrações Ativas (Fc) (µg/mL)	Redução da viabilidade celular (Rc) (%)	IC ₅₀ (µg/mL)	Eficácia (E) (%)	Índice de Seletividade (IS)
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	1000 a 250	82,37 a 54,08	235,2	85,66 a 56,24	0,67
<i>Acrocomia aculeata</i>	Folhas	1000 a 250	96,77 a 59,87	193,4	100,82 a 62,38	0,87
<i>Alternanthera sp. Forssk</i>	Folhas	1000 a 500	55,58 a 39,17	380,4	58,15 a 40,98	1,537
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	1000	61,63	624,2	64,95	0,264
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	1000 a 500	73,75 a 59,72	329,7	77,16 a 62,48	0,344
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	1000 a 500	67,24 a 65,93	282,6	70,76 a 69,39	0,33
	Raiz	1000 a 250	93,82 a 74,91	154,4	98,77 a 78,86	0,603
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	1000 a 250	97,19 a 97,49	38,47	101,26 a 101,57	1,316
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	1000 a 500	92,03 a 67,30	365,1	96,94 a 70,89	0,643
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	-	-	-	-	-
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	1000 a 500	71,74 a 48,88	335,6	75,58 a 51,49	1,097
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	1000 a 250	87,37 a 14,91	607,9	111,38 a 19,01	0,791
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	1000 a 250	75,31 a 62,81	163,3	78,32 a 68,5	1,026

Paclitaxel 35 µg/mL(fármaco padrão): 100% de eficácia; redução média da viabilidade celular em $94,58 \pm 2,88$; IC₅₀ de 101,7 µg/mL e IS de 2,507.

Fc = faixa de concentrações ativas (diferenças significativas em $p < 0,05$, intervalo de confiança de 95% comparada aos respectivos controles negativos ou viabilidades); Rc = redução da viabilidade celular observada para a maior e menor concentração ativa do extrato; IC₅₀ = Concentração que inibe 50% das células; IS = Índice de Seletividade; E= eficácia observada comparado como respectivos fármacos padrões considerados como 100% de atividade; (-)= extratos que não apresentaram redução de viabilidade igual ou superior a 50% nas concentrações testadas no estudo, não sendo possível calcular a IC₅₀ e IS. Os resultados apresentam a avaliação de três experimentos independentes realizados em triplicata.

Na avaliação da atividade antitumoral sobre células MDA-MB-231 o extrato etanólico das folhas de *S. rugosa* apresentou atividade significativa nas concentrações de 1000 a 250 µg/mL (redução da viabilidade celular variando de 87,37% a 14,91%) com IC₅₀ de 607,9 µg/mL. Considerando a eficácia em relação ao paclitaxel (100% de eficácia e percentual de morte celular de 85,66%), foi observada eficácia na maior concentração testada correspondente a 111,38%. Apesar da boa eficácia apresentada por este extrato o índice de seletividade (IS) foi apenas 0,790, de forma que a citotoxicidade observada pode limitar sua aplicação terapêutica, além da elevada IC₅₀ (Figura 23; Tabela 9).

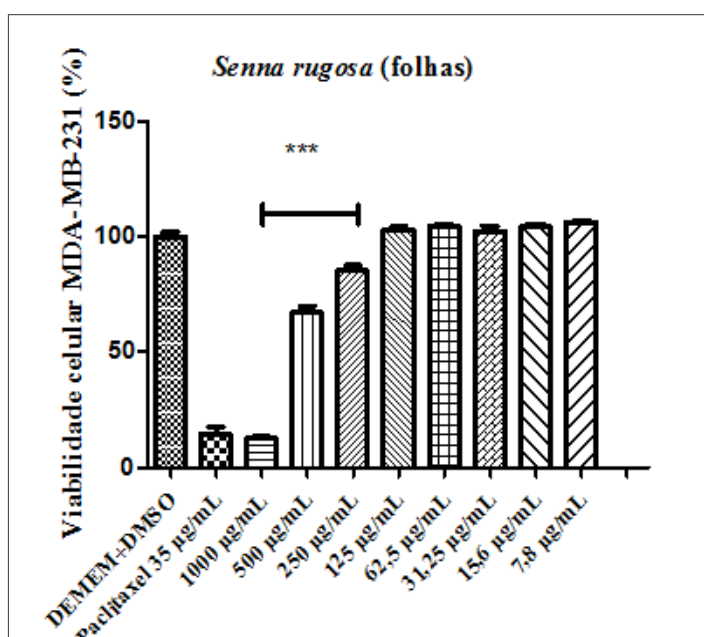


Figura 23: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de *Senna rugosa* sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEMEM+DMSO). (***) corresponde a diferenças significativas com $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Várias espécies do gênero *Senna* tem sido descritas na literatura apresentando potencial atividade antitumoral. O extrato hexânico das folhas de *Senna alata* (*Cassia alata*) mostrou citotoxicidade notável contra a linhagem celular de câncer de mama (MCF-7) e de câncer da bexiga (T24) de um modo dependente da dose (OLARTE *et al.*, 2013). Esta mesma espécie também produziu atividade significativa frente à linhagem celular de câncer de ovário humano (OV2008) e para a linhagem celular de leucemia mieloide aguda humana (Kasumi-1), que foi associada à presença de caempferol, um flavonóide identificado no extrato de *S. alata* (LEVY & CARLEY, 2012). Extrato metanólico das folhas de *Senna tora* (*Cassia tora*

L.) teve um efeito antiproliferativo significativo em células de carcinoma humano da língua (TCA8113), que foi dose dependente (ZHAO *et al.*, 2012). O extrato acetônico das raízes de *Senna italica* inibiu células cancerígenas T Jurkat (MASOKO *et al.*, 2010). Os extratos de folhas de *Senna gardneri* e *Senna splendida* apresentaram uma significativa inibição das linhagens de carcinoma de cólon humano (HTC-116), do sistema nervoso central (SF-295) e de câncer do ovário (OVCAR-8). Esta atividade, provavelmente, foi resultado da presença de antraquinonas e flavonóides detectados na triagem fitoquímica dos extratos (SILVA & SILVA *et al.*, 2014). Atividade sobre a linhagem celular de leucemia K562 foi observada para os extratos hidrometanólico das folhas de *S. alata* e *Senna podocarpa* com valores de CC₅₀ de 104,5 µg/mL e 131,8 µg/mL, respectivamente (ADEBESIN *et al.*, 2013). Já os óleos essenciais extraídos de *S. alata* e *Senna occidentalis* inibiram o crescimento da linhagem celular de câncer de mama 578T (ESSIEN *et al.*, 2011).

Na triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *S. rugosa* foram também encontrados flavonóides e antraquinonas (Tabela 1 – Anexo B), que têm sido associados à atividade antitumoral de espécies de *Senna*, conforme relatado anteriormente (LEVY & CARLEY, 2012; SILVA & SILVA, 2014). Isto poderia justificar a atividade que este extrato apresentou contra a linhagem de câncer de mama (MDA-MB-231), uma vez que estas duas classes de metabólitos são relatadas por serem frequentes em espécies deste gênero (VIEGAS-JUNIOR *et al.*, 2006). Também segundo Macedo *et al.* (2016) das mais de 60 atividades biofarmacológicas descritas para as espécies de *Senna*, destaca-se a atividade antitumoral, que foi associada a presença de antraquinonas e flavonóides nestas plantas.

Um aspecto importante a ser considerado é que apesar da relevante atividade antitumoral apresentada, foi detectada uma importante citotoxicidade associada. Desta forma, torna-se necessário uma investigação mais aprofundada do extrato dessa espécie, através do fracionamento e isolamento da(s) substância(s) responsável(éis) por tal atividade, o que poderia potencializar a mesma, diminuindo a IC₅₀ e, talvez, aumentando a seletividade da ação sobre as células tumorais (IS).

Foi observada significativa atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus* sobre células MDA-MB-231 nas concentrações de 1000 µg/mL a 250 µg/mL, com significativa redução de viabilidade celular (97,19% a 97,48%) e IC₅₀ de 38,47 µg/mL. Quando comparado ao paclitaxel (percentual de morte celular de 95,97%), foi observada uma excelente eficácia (101,26% a 101,57%), semelhante ao fármaco padrão, em

todas as concentrações testadas. O IS foi de 1,316 (Figura 24; Tabela 9). Estes dados revelam que o extrato pode ser bastante promissor como fonte de novas moléculas com ação antitumoral, visto que o mesmo apresentou eficácia semelhante ao fármaco padrão (substância purificada) em todas as concentrações ativas, reduziu significativamente a viabilidade das células tumorais, apresentou uma baixa IC_{50} e foi o segundo extrato com a maior seletividade para células tumorais (IS de 1,316) entre os avaliados, embora ainda inferior a dois. No entanto, ainda assim, este índice de seletividade quando comparado com o paclitaxel (IS de 2,507), demonstra que este extrato é um forte candidato em fornecer moléculas com ação antitumoral. Isto porque, o paclitaxel é uma substância pura e o extrato é complexo, existindo diversas substâncias, sendo que as que podem estar relacionadas à toxicidade podem não ser as mesmas responsáveis por esta atividade, ou que vários constituintes podem estar contribuindo para essa toxicidade, de forma que o fracionamento pode resultar na redução de tal propriedade.

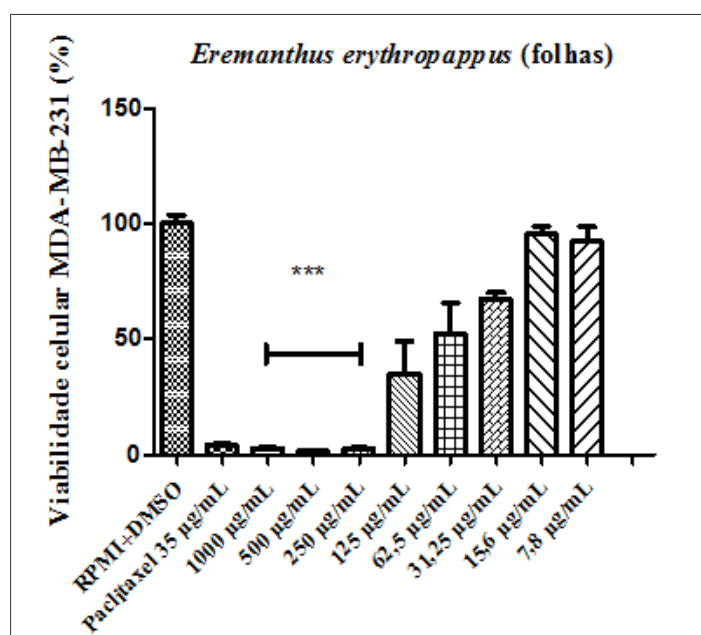


Figura 24: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de *Eremanthus erythropappus* sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEMEM+DMSO). (***) corresponde a diferenças significativas com $p \leq 0,0001$, considerando intervalo de confiança de 95%.

Lactonas sesquiterpênicas (terpenóides) são encontradas na maioria das espécies pertencentes à família Asteraceae. Estas representam uma classe de moléculas com várias atividades biológicas, no entanto, são compostos com elevada capacidade tóxica, inclusive em

espécies de *Eremanthus* (AMORIM *et al.*, 2013). Exemplo disto é que o extrato etanólico das folhas de *Eremanthus crotonoides* apresentou atividade frente às linhagens celulares de glioblastoma multiforme U87-MG e U251, com valores de IC₅₀ de 46,14 µg/mL e 61,01 µg/mL, respectivamente. Na fração diclorometânica deste mesmo extrato foram isoladas duas lactonas sesquiterpênicas (centraterina e goyazensolido), que apresentaram potencialização do efeito antitumoral para estas linhagens celulares (IC₅₀ de 16,25 µg/mL e 19,56 µg/mL) (LOBO *et al.*, 2012). Antraquinonas também são descritas por possuírem esta atividade farmacológica (MORIER-TEISSIER *et al.*, 1993; PERCHELLET *et al.*, 2000; RAVEEDRAN *et al.*, 2011).

Estes metabólitos (terpenóides), além de flavonóides e taninos, descritos por apresentarem ação antitumoral (SÁNCHEZ, 2009; FONG *et al.*, 1972), também foram identificados na triagem fitoquímica do extrato de *E. erythropappus* (Tabela 1 – Anexo B), podendo também ser os responsáveis pela atividade antitumoral observada para este extrato. Considerando que no extrato, provavelmente, uma elevada quantidade de compostos complexos deva estar presente e que aqueles responsáveis por essas atividades podem estar em concentrações baixas, deve-se prosseguir com o estudo desta planta, promovendo o fracionamento do extrato para caracterização química de seus constituintes e avaliação mais detalhada da atividade neste e em outros modelos de avaliação de atividade antitumoral, a fim de elucidar os prováveis componentes responsáveis por esta atividade e pela citotoxicidade e seus mecanismos de ação.

O extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* apresentou uma significativa atividade antitumoral frente às células MDA-MB-231 na faixa de concentração de 1000 a 250 µg/mL, com eficácia de 100,82% a 62,38%, em relação ao paclitaxel (percentual de morte celular de 95,98%), IC₅₀ de 193,4 µg/mL e IS 0,870 (Figura 25; Tabela 9).

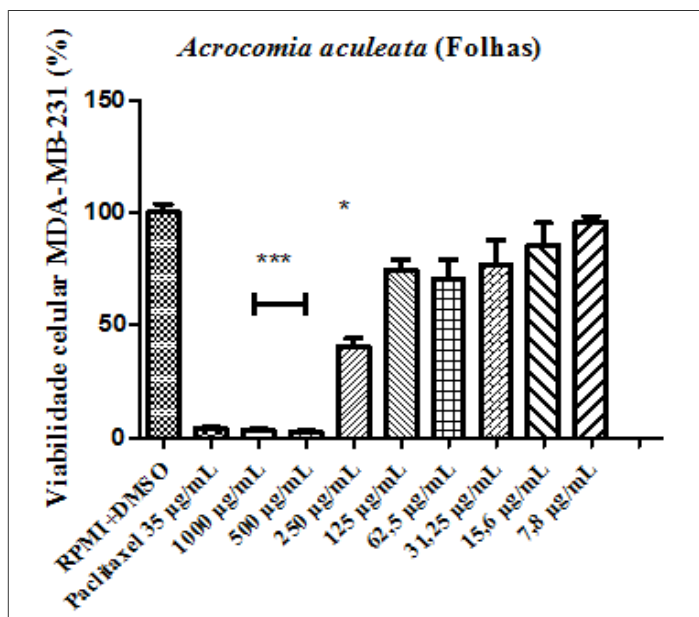


Figura 25:

atividade

extrato etanólico das

aculeata sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEM+DMSO). (*) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Avaliação da
antitumoral do

folhas de *Acrocomia*

Segundo Oliveira *et al.* (2015) a partição da fração acetato de etila dos espinhos de *Acrocomia totai* apresentou atividade significativa contra linhagem de células tumorais da mama (MCF-7) e glioma (U251), sendo esta atividade mais seletiva quando comparada com a citotoxicidade em células não cancerosas de referência HaCaT. Semelhantemente aos resultados encontrados para o extrato etanólico das folhas de *A. aculeata*, outros estudos também mostram atividade antitumoral para outras espécies pertencentes a sua família botânica (Arecaceae). Como exemplo, os extratos hidroalcoólicos das cascas, sementes e fruto de *Euterpe oleracea*, que provocaram redução significativa na viabilidade celular de MCF-7 de câncer de mama (SILVA *et al.*, 2014b). Um óleo a base de compostos fenólicos extraídos de *Elaies guineenses* inibiu a proliferação de células de câncer pancreático (PANC-1 e BxPC-3) de modo dose dependente (JI *et al.*, 2015). Já o extrato etanólico de *Crocus sativus* provocou uma citotoxicidade dependente da dose em células tumorais de Sarcoma 180 (S-180), leucemia P388, carcinoma de ascite Ehrlich (EAC) e linfoma de Dalton (DLA), com IC₅₀ de células tumorais foi de 28, 30, 17 e 9 µg/mL, respectivamente (NAIR *et al.*, 1991).

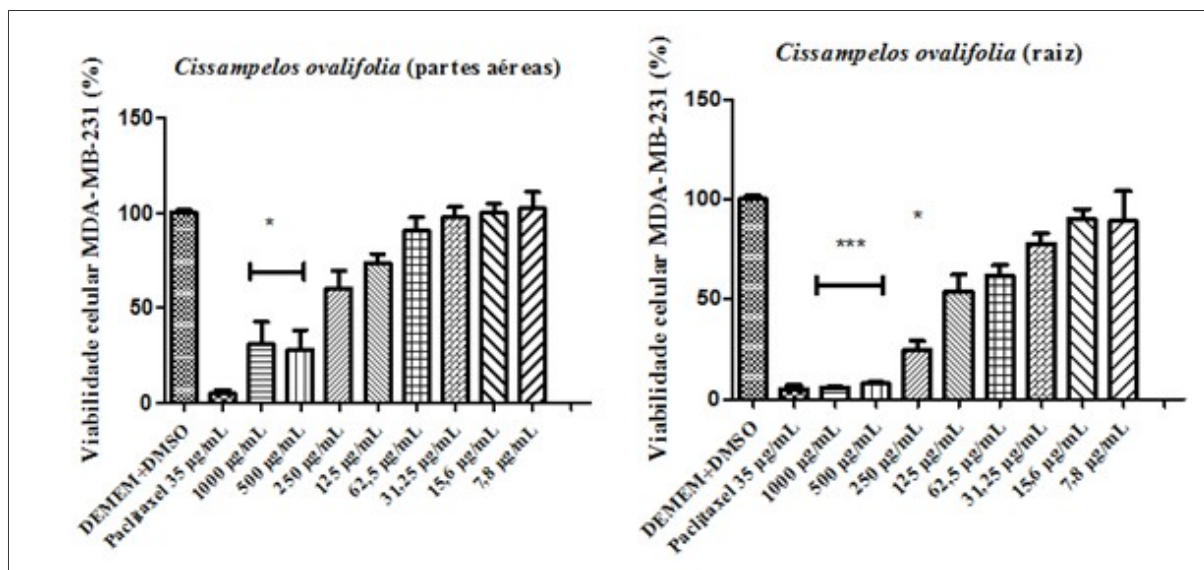
A triagem fitoquímica do extrato de *A. aculeata* revelou a presença de taninos, flavonóides e cumarinas. Esses metabólitos podem ter contribuído para a atividade observada, uma vez que na literatura têm sido registradas atividade antitumoral de taninos sobre as linhagens tumorais KB, HeLa, DU-145, Hep 3B, HL-60, S-180, HSC-2 e HSG (WANG *et al.*,

1999; SAKAGAMI *et al.*, 2000; DUFRESNE & FARNWORTH, 2001); para flavonóides frente as células HeLa, KB, WISH, MCF-7, SK-MEL-28 e NK/Ly (INDAP *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2012; CARDENAS *et al.*, 2006; MOLNAR *et al.*, 1980); e também de cumarinas frente carcinoma gástrico, HepG2, Caco-2, CCRF CEM, células 212, NIH 3T3, HeLa e HEL (ASANO *et al.*, 1996; LIN *et al.*, 1996; WEBER *et al.*, 1998).

O extrato etanólico das raízes de *C. ovalifolia* apresentou atividade significativa frente às células MDA-MB-231, na faixa de concentração de 1000 a 250 µg/mL (com redução da viabilidade celular variando de 93,82% a 74,91%), IC₅₀ de 154,4 µg/mL, eficácia de 98,77% a 78,86%, quando comparada ao paclitaxel (percentual de morte celular de 95,02%) e IS de 0,603. Já o extrato das partes aéreas desta mesma espécie, embora menos ativo que o da raiz, apresentou atividade nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL (com redução da viabilidade celular de 67,24% e 65,93%, respectivamente), IC₅₀ de 282,6 µg/mL, eficácia de 70,76% e 69,39%, respectivamente, em relação ao fármaco padrão, paclitaxel (percentual de morte celular de 95,02%) e IS de 0,330 (Figura 26; Tabela 9).

Na literatura não há estudos concernentes a atividade antitumoral desta espécie, mas outras espécies pertencentes ao gênero *Cissampelos* também apresentaram potencial atividade. O extrato metanólico de *Cissampelos pereira* exibiu boa atividade *in vitro* frente à linhagem de células de câncer de mama MCF-7 (IC₅₀ de 95,5 µg/mL) e *in vivo* em camundongos portadores de tumor DLA (THAVAMANI *et al.*, 2014). Desta mesma espécie foi isolado um alcalóide, cissampareme, que teve uma atividade inibidora significativa contra o carcinoma humano da nasofaringe realizado em culturas de células KB (KUPCHAN *et al.*, 1965). Extratos de alcalóides das folhas e rizomas de *Cissampelos capensis*, *Cissampelos hirta*, *Cissampelos mucronata* e *Cissampelos torulosa* que apresentaram atividade contra a linhagem MCF7 (câncer de mama), UACC62 (melanoma) e TK10 (câncer renal) (WET *et al.*, 2008). Consequentemente, a maior atividade antitumoral observada para o extrato das raízes de *C. ovalifolia* comparada a das partes das aéreas, já era esperado e pode estar associada à presença de alcalóides, visto que esta classe de metabólito secundário foi também observada em sua triagem fitoquímica semelhantemente a outras plantas do gênero (Tabela 1 – Anexo B).

Figura 26: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das partes aéreas e raiz de *Cissampelos ovalifolia* sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEMEM+DMSO). (*) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.



Os extratos de ambas as partes de *C. ovalifolia* na análise fitoquímica também apresentaram terpenóides, flavonóides e taninos (Tabela 1 – Anexo B). Todas estas classes de metabólitos secundários são reportadas por possuírem ação antitumoral (PETRONELLI *et al.*, 2009; ZHAO *et al.*, 2015; KRESS *et al.*, 2007; KANDASWAMI *et al.*, 2005; CHAHAR *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 1999; SAKAGAMI *et al.*, 2000) e, podem estar associados à atividade frente as células MDA-MB-231 para ambos os extratos de *C. ovalifolia*, devendo-se promover o fracionamento para melhor conhecimento de características químicas desta espécie e a provável classe/substâncias responsáveis pela atividade e elevada citotoxicidade associada ao extrato.

Extrato oriundo das partes aéreas de *E. horridum* mostrou ser ativo contra as células MDA-MB-231 nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, com redução da viabilidade celular de 92,03% e 67,30%, respectivamente, e IC₅₀ de 365,1 µg/mL. A eficácia foi de 96,94% e 70,89%, respectivamente, e IS de 0,643 (Figura 27; Tabela 9). Quando comparado ao fármaco padrão, paclitaxel (percentual de morte celular de 94,93%), o extrato apresentou uma eficácia relativamente boa em todas as concentrações ativas, contudo sua ação foi pouco seletiva sobre as células MDA-MB-231, sendo também tóxica para as células L929.

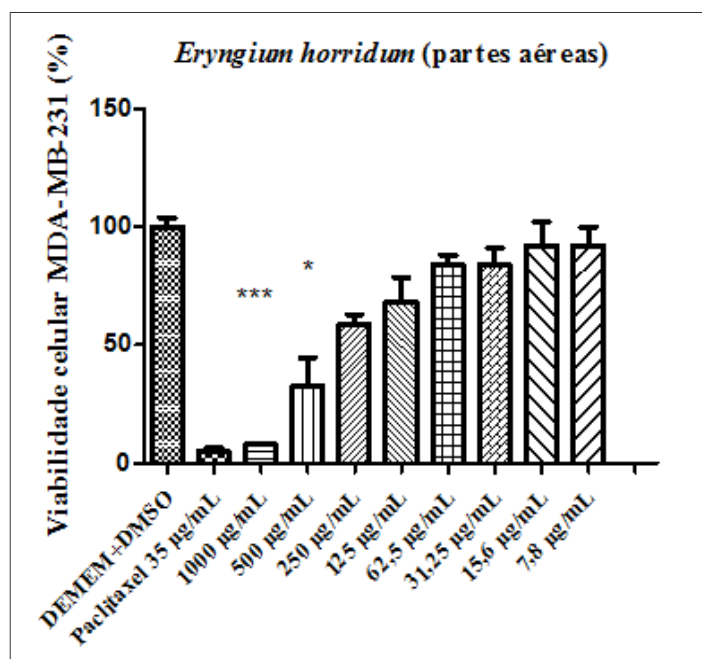


Figura 27:
atividade

Avaliação da
antitumoral do

extrato etanólico das partes aéreas de *Eryngium horridum* sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEMEM+DMSO). (*) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%

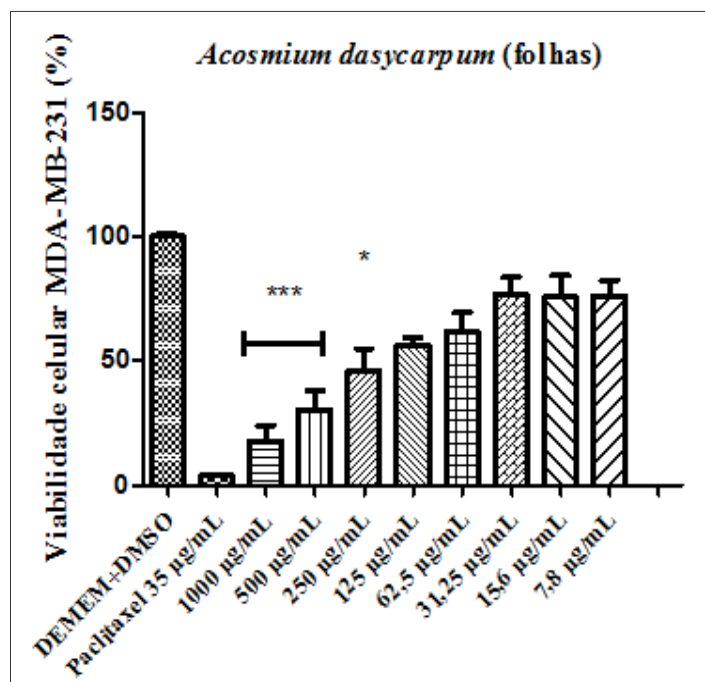
Espécies do gênero *Eryngium* também são relatadas por apresentarem atividade antitumoral. Exemplos são os estudos relacionados à avaliação dos extratos metanólicos das folhas obtidos de *Eryngium creticum* que apresentaram atividade sobre a linhagem celular de câncer de mama MCF-7 (HUSSEIN *et al.*, 2013). Segundo Yurdakok e Baydan (2013) os extratos de *Eryngium maritimum* e *Eryngium kotschy* apresentaram atividade antitumoral contra carcinoma humano hepatocelular (HepG2), carcinoma epidermóide de laringe humana (Hep2) e glioma humano (U138- MG). O extrato de *Eryngium planum* mostrou-se altamente significativo na indução de apoptose de três linhagens celular cancerígena: J45, C8166 e U266 (BOGUCKAKOCKA *et al.*, 2008). O extrato metanólico de *Eryngium billardieri* exibiu citotoxicidade com valores de IC_{50} de 6,5 $\mu\text{g/mL}$, 6,7 $\mu\text{g/mL}$, 59,9 $\mu\text{g/mL}$ e 37,6 $\mu\text{g/mL}$ para linhagem celular de câncer de mama (MCF-7), adenocarcinoma de colo humano (HT-29), de câncer do hígado (HepG-2) e de câncer do pulmão (A-549), respectivamente (ESMAEILI *et al.*, 2016). A partir da espécie *Eryngium campestre* foram isoladas saponinas triterpênicas que exibiram atividades moderadas ou fracas contra células cancerígenas de pâncreas humano, próstata, pulmão, leucêmica, cólon e a linhagem de células de fibroblastos de pulmão humano normal (KARTAL *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2010).

Saponinas também foram observadas no extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum* (Tabela 1 – Anexo B) e poderiam ser as responsáveis também pela atividade antitumoral apresentada frente as células MDA-MB-231, pois estas foram isoladas da espécie *E. campestre* apresentaram atividade antitumoral frente a várias linhagens de células cancerígenas (KARTAL *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2010). Além desta classe de metabólito secundário, taninos e terpenóides foram encontrados neste extrato e, são substâncias conhecidas por apresentarem propriedades antitumorais e também elevada citotoxicidade associada (MIYAMOTO *et al.*, 1992; MIYAMOTO *et al.*, 1987; YADAV *et al.*, 2009; HOU *et al.*, 2007), o que poderia justificar o baixo índice de seletividade observada para o extrato frente a esta atividade. Corroborando esta observação, Rojas-Silva *et al.* (2014) mostraram que a espécie *Eryngium foetidum* apresentou sesquiterpeno e terpeno, que exibiram importante citotoxicidade para mioblastos de ratos (L6).

Na avaliação da atividade antitumoral sobre células MDA-MB-231 foi observada uma significativa atividade para o extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum* nas concentrações de 1000 a 250 µg/mL (redução da viabilidade de 82,37% a 54,08%), IC₅₀ de 235,2 µg/mL, eficácia de 85,66% a 56,24% quando comparado com o fármaco padrão, paclitaxel (percentual de morte celular de 96,15%), e IS de 0,670 (Figura 28; Tabela 9).

São atribuídas propriedades antineoplásicas às cascas da raiz desta espécie (TREVISAN, 2002). Desta foi isolado o lupeol (triterpeno) (ROCHA *et al.*, 1980 apud SOUSA-JUNIOR *et al.*, 2009), que tem sido relatado na literatura por apresentar propriedades antineoplásicas (PITCHAI *et al.*, 2014; SALEEM, 2009; MILES & KOKPOL, 1976; MORIARITY *et al.*, 1998). Dessa forma, a atividade antitumoral observada para o extrato etanólico das folhas desta espécie, está em concordância com a literatura e, provavelmente, pode ser atribuída a presença triterpenos, uma vez que na triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum*, foi detectada esta classe de metabólito (Tabela 1 – Anexo B).

Figura 28: Avaliação antitumoral do das folhas de *dasycarpum* sobre resultados foram média do percentual celular \pm desvio



da atividade extrato etanólico *Acosmium* MDA-MB-231. Os expressos como de viabilidade padrão de três

experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEMEM+DMSO). (*) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Além desta classe de metabólito, também foram identificados na triagem fitoquímica deste extrato alcalóides, flavonóides e antraquinonas (Tabela 1 – Anexo B), os quais têm sido verificados por possuírem propriedades antitumorais em espécies pertencentes à mesma família botânica que *A. dasycarpum* (Fabaceae). Como exemplo, podem ser citados o estudo realizado por Mohammed *et al.* (2013) que isolou alcalóides totais de *Sophora alopecuroides* e que exibiram um efeito antitumoral em ratinhos portadores de hepatoma H22 (CHANG *et al.*, 2014). Duas antraquinonas isoladas de *Cassia roxburghii*, acetato de aloe-emodina e aloe-emodina, apresentaram atividade antitumoral com IC_{50} de 153,30 e 70,02 $\mu\text{g/mL}$ contra HCT-116 e IC_{50} de 93,20 e 53,20 $\mu\text{g/mL}$ contra células MCF-7, respectivamente. A Vitexina, um flavonóide isolado da *Gleditsia triacanthos* (Fabaceae) apresentou potencial atividade antitumoral frente a linhagem de células de câncer de mama MCF-7 (MOHAMMED *et al.*, 2014).

Espécies de plantas da mesma família botânica que *A. dasycarpum* são encontradas por apresentarem atividade contra diferentes linhagens de células tumorais. Frações obtidas do extrato metanólico das sementes de *Psoralea corylifolia* foram avaliadas pela citotoxicidade em células cancerosas KB, KBv200, K562, K562/adm. Uma das frações inibiu significativamente o crescimento de células cancerosas de uma maneira dose-dependente, com valores de IC₅₀ de 21,6 µg/mL, 24,4 µg/mL, 10,0 µg/mL e 26,9 µg/mL, respectivamente. Desta fração foram isolados, compostos da classe das cumarinas, psoraleno e isopsoraleno, que também apresentaram atividade antitumoral sobre as mesmas linhagens com valores de IC₅₀ para o psoraleno de 88,1 µg/mL sobre KB, 86,6 µg/mL sobre KBv200, 24,4 µg/mL sobre K562 e 62,6 µg/mL sobre K562 e, para isopsoraleno de 61,9 µg/mL, 49,4 µg/mL, 49,6 µg/mL e 72,0 µg/mL, respectivamente (WANG *et al.*, 2011). Contudo, metabólitos desta classe não foram encontrados no extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum*. O extrato metanólico de *Mucuna pruriens* e o extrato etanólico de *Sesbania grandiflora* exibiram significativo efeito antitumoral em ratos portadores de carcinoma ascítico de Ehrlich (RAJESHWAR *et al.*, 2005; SREELATHA *et al.*, 2011). Já os extratos clorofórmio, metanólico e aquoso de *Glycyrrhiza glabra* L. foram citotóxicos frente a MCF-7 (câncer de mama), apresentando valores de IC₅₀ de 0,4485 µM, 0,9906 µM e 1,288 µM, respectivamente (RATHI *et al.*, 2009).

O extrato de toda espécie *T. cathartica* reduziu significativamente a viabilidade das células MDA-MB-231 na faixa de concentração de 1000 a 250 µg/mL (redução da viabilidade celular de 75,31% a 62,82%), IC₅₀ de 163,3 µg/mL, eficácia de 78,32% a 68,5%, em relação ao fármaco padrão, paclitaxel (percentual de morte celular de 96,15%,) e apresentou IS de 1,026 utilizando a linhagem L929. (Figura 29; Tabela 9). Em decorrência da boa atividade apresentada por esse extrato e dos baixos valores de IC₅₀ obtidos para o extrato bruto, estudos mais aprofundados devem ser realizados, com o intuito de isolar a substância com ação antitumoral. Apesar da atividade, foi verificado uma elevada citotoxicidade deste extrato, e o fracionamento pode contribuir para potencializar a ação e, talvez, reduzir a toxicidade associada ao constituinte detentor desta propriedade.

Esta espécie ainda não foi avaliada quanto esta atividade, mas algumas espécies de plantas pertencentes à sua família Iridaceae têm apresentado potencial atividade antitumoral. A espécie *Crocus sativus* possui em sua composição química um carotenóide (terpenóide), crocina, que tem exibido atividade antitumoral contra muitas linhagens de células tumorais humanas, como: linhagem celular de câncer cervical (HeLa); linhagem celular de câncer de mama (MCF-7), linhagem celular de câncer de colorretal (HCT-116, SW-480 e HT-29), HL-

60; linfoma ascítico de Danton (DLA), entre outras (ESCRIBANO *et al.*, 1996; MOUSAVI *et al.*, 2011; AUNG *et al.*, 2007; SUN *et al.*, 2013; BAKSHI *et al.*, 2009). Extratos obtidos da raiz de *Belamcanda chinensis* exibiram significativa atividade antitumoral contra a linhagem celular de câncer de próstata humano (PC-3), linhagem celular de câncer de mama humano (Bcap-37) e linhagem celular de câncer gástrico (BGC-823) (LIU *et al.*, 2012). Extrato de *Romulea tempskyana* (Iridaceae) reduziu a carcinogênese quando avaliado sobre hepatoma G2 e células H1299 (OZKAN & ERDOGAN, 2011).

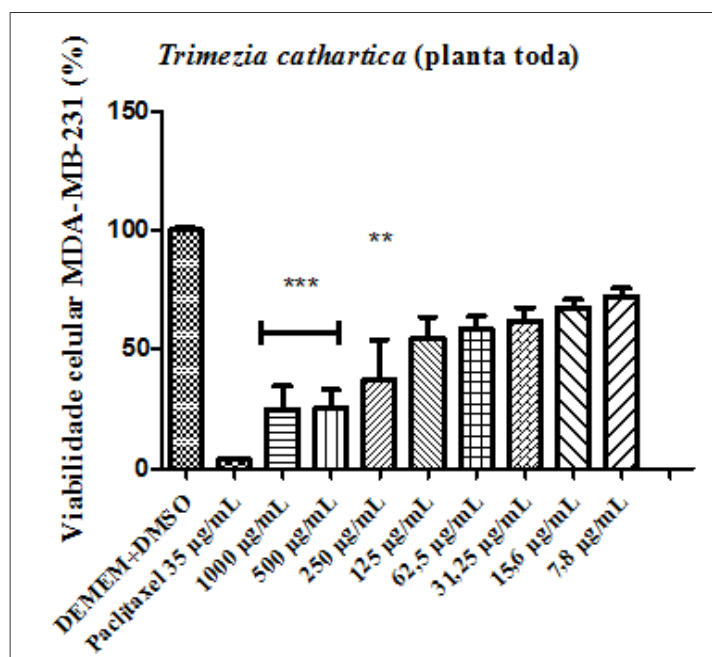


Figura 29: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico de toda planta *Trimezia cathartica* sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEMEM+DMSO). (**) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Além de espécies pertencentes à mesma família de *T. cathartica* apresentarem atividade antitumoral, a triagem fitoquímica do seu extrato revelou a presença de flavonóides (Tabela 1 – Anexo B), que são substâncias com propriedades antitumorais e, comumente, encontradas em espécies da mesma família botânica, de forma que esta classe de metabólitos poderia estar associada a atividade apresentada pelo extrato da planta inteira da espécie *T. cathartica*. Exemplificando, do extrato das partes aéreas de *Moraea sisyrinchium* foi isolado um flavonóide apigenina (SHABRAWY *et al.*, 2013), que em estudos anteriores foi reportado por possuir ação frente HL-60 (células de leucemia promielocíticas humanas) (RUELA-DE-SOUSA *et al.*, 2010) e ABT-263 (células cancerígenas de cólon) (SHAO *et al.*, 2013). Isoflavonas (flavonóides) isoladas dos rizomas de *Iris germânicas* exibiram efeitos

antiproliferativos em linhagem celular de câncer de ascite de Ehrlich em camundongos (EAC) (XIE *et al.*, 2013). A partir da espécie *Iris bungei* foram isoladas seis isoflavonas (irisolidona 7-O- α -D-glicósido (1), irigenina (2), irilona (3), iriflogenina (4), e iriskashmirianina (5)), que mostraram como sendo inibidores da atividade do citocromo P450. As isoflavonas 2, 3 e 5 exerceram atividade antitumoral em ratos infectados com Hepa 1c1c7 (XIE *et al.*, 2013; CHOUDHARY *et al.*, 2001).

Atividade significativa foi observada para o extrato etanólico das folhas de *C. adamantium* nas concentrações de 1000 e 500 $\mu\text{g/mL}$ (redução da viabilidade celular de variando de 73,75% a 59,72%), IC_{50} de 329,7 $\mu\text{g/mL}$, com eficácia de 77,16% a 62,48% em relação ao paclitaxel (percentual de morte celular de 95,58%) e IS de 0,344 (Figura 30; Tabela 9).

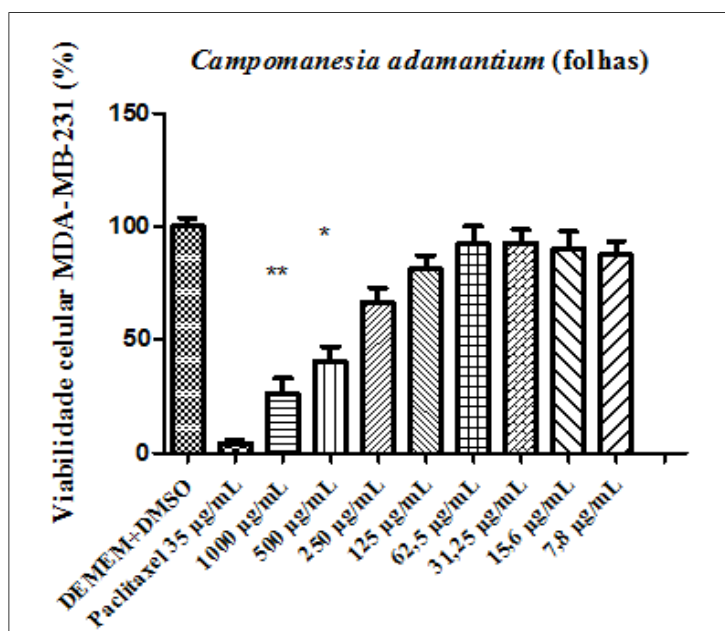


Figura 30: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de *Campomanesia adamantium* sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEMEM+DMSO). (*) e (**) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,0$ e $p \leq 0,01$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Diversos estudos demonstram que esta espécie é rica em substâncias da classe dos flavonóides (PAVAN *et al.*, 2009; FERREIRA *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2015). Pascoal *et al.* (2014) isolaram do extrato etanólico das folhas desta espécie um flavonóide da classe das chalconas ((2E) -1- (2,4-di-hidroxi-6-metoxifenil) -3-fenil-prop-2-en-1-ona, cardamonina) que inibiu a proliferação de células de câncer de próstata (PC-3) e diminuiu a

expressão de NFkB1. Dessa forma, no presente estudo flavonóides podem ter contribuído para a atividade antitumoral observada para o extrato etanólico das folhas desta espécie, visto que na triagem fitoquímica deste extrato também foi identificada a presença deste metabólito (Tabela 1 – Anexo B).

Terpenóides e taninos também foram observados na triagem fitoquímica deste extrato (Tabela 1 – Anexo B) e estas classes de metabólitos estão também associadas com propriedades antitumorais em espécies vegetais pertencentes à sua família botânica - Myrtaceae (YE *et al.*, 2007; MARZOUK *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2000; (KOMURIAH *et al.*, 2014). Do extrato acetônico da espécie *Eugenia jambos*, foram isolados dois taninos hidrolisáveis (castalagina 1-O-galoil e casuarinina), que exibiram atividade para as células HL-60, com valores de IC₅₀ de 10,8 µM e 12,5 µM, respectivamente (YANG *et al.*, 2000). A partir das folhas de *Pimenta dioica* foi isolado um tanino, pedunculagina, que teve atividade antitumoral significativa contra as células cancerosas do tumor sólido (MARZOUK *et al.*, 2007). Dois flavonóides isolados de *Cleistocalyx operculatus* mostraram atividade antitumoral de amplo espectro contra as linhagens de células de câncer humano, SMMC-7721 (câncer do fígado), 8898 (câncer pancreático), K562 (leucemia crônica), HeLa (tumor do colo do útero) e 95-D (carcinoma do pulmão) (YE *et al.*, 2007). Eucaliptina, flavonóide isolado das folhas de *Syzygium alternifolium*, apresentou significativa atividade antitumoral contra as células MCCF-7 e DU-145, com valores de IC₅₀ de 51,466 µg/mL e 31,081 µg/mL, respectivamente (KOMURIAH *et al.*, 2014).

A atividade antitumoral sobre as células MDA-MB-231 do extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa* foi observada nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL (redução da viabilidade

71,74% e

IC₅₀ de 335,6

de 75,58% e

respectivamente,

paclitaxel

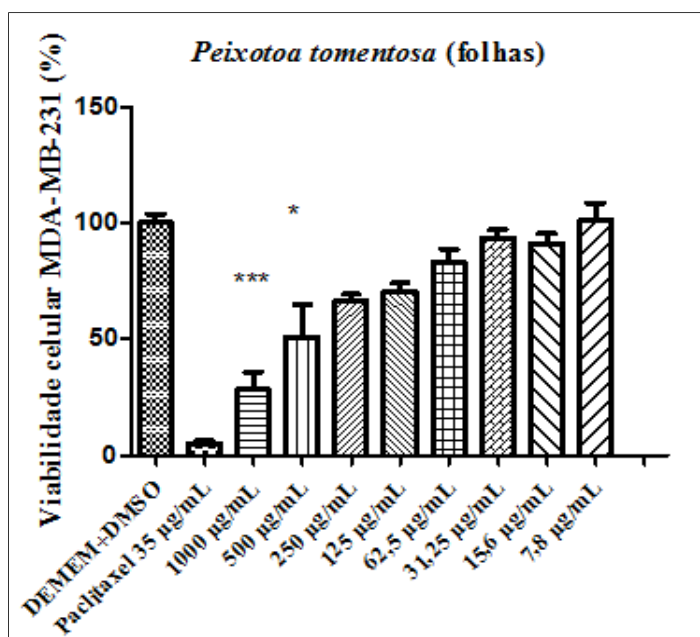
morte celular de

1,097 (Figura 31;

a redução da

celular quanto

maior



celular de

48,88%,

respectivamente),

µg/mL, eficácia

51,49%,

em relação ao

(percentual de

94,93%), e IS de

Tabela 9). Tanto

viabilidade

sua eficácia, na

concentração

ativa, apresenta-se superior a 70%, estando entre os quatros extratos com a maior seletividade para células tumorais (IS > 1), embora ainda esteja abaixo do desejado conforme preconizado por Suffnes & Pezzuto, (1991). Neste sentido, são necessários estudos objetivando o fracionamento e análise química mais detalhada e avaliação da atividade e da citotoxicidade, considerando fato de se tratar de um extrato bruto com mistura complexa de substâncias. Dessa forma, é necessário destacar que o problema de toxicidade é inerente a maioria dos fármacos antitumorais utilizados na terapia convencional, com a ciplastina (TSANG *et al.*, 2009) e o próprio paclitaxel, cujo o IS foi de de 2,507. Embora mais expressivo, deve-se lembrar que ele é uma substância pura diferencialmente do extrato bruto, em que uma série de substâncias poderiam também estar contribuindo com esta propriedade.

Figura 31: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de *Peixotoa tomentosa* sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEMEM+DMSO). (*) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Algumas espécies de plantas pertencentes à família Malpighiaceae, da qual *P. tomentosa* faz parte, também apresentam propriedades antitumorais, sendo em geral detectados terpenóides e flavonoides associados a essa atividade, que também foram encontradas nas folhas da planta avaliada. A partir do extrato metanólico de *Acridocarpus vivy* foi isolado triterpenóides e flavonóides, sendo que um triterpenóides mostrou uma atividade citotóxica significativa para a linhagem celular de câncer do ovário humano (A2780), com um valor de IC_{50} de $0,7 \mu\text{g/mL}$ (CAO *et al.*, 2004). A fração clorofórmio obtida das folhas de *Byrsonima duckeana* diminuiu a viabilidade de células de adenocarcinoma (HT29) (VERDAM *et al.*, 2014). A partição hexânica do extrato etanólico das folhas de *Byrsonima sericea* apresentou atividade citotóxica para HepG2 (câncer de fígado) e HL-60 (células de leucemia humana), inibindo o crescimento destas linhagens celulares em 91,62% e 109,0%, respectivamente (SILVA *et al.*, 2016). Fenantreno (terpenóides), isolado das raízes de *Banisteriopsis anisandra*, exibiu citotoxicidade frente a células de ovário de hamster chinês (CHO), com IC_{50} de $6,0 \mu\text{g/mL}$, além das linhagens, tumorais de melanoma maligno humano (MeWO), de carcinoma do colón humano (CT26.WT) e melanoma de murino (B16-F10) (FREITAS *et al.*, 2015).

Carlos *et al.*, (2005) identificaram na triagem fitoquímica dos extratos metanólico e etanólico das folhas de *Davilla elliptica* (Malpighiaceae) flavonóides, triterpenos, esteroides, ácido gálico e catequinas. Ambos os extratos estimularam a produção de óxido nítrico (NO) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) por macrófagos murinos. Este primeiro está envolvido em processos de destruição de células tumorais por macrófagos ativados (STUEHR & NATHAN, 1989). Além disso, macrófagos murinos estimulados com TNF- α produziram NO através da expressão da indução do gene da óxido nítrico sintase, e acredita-se que este composto produzido por esta via desempenha um papel importante nas atividades antitumoral e antimicrobiana (XIE *et al.*, 1992).

Também foram encontrados na triagem fitoquímica preliminar do extrato de *P. tomentosa* taninos e saponinas (Tabela 1 – Anexo B), que possuem propriedades antitumorais

também relatadas na literatura (YANG *et al.*, 2000; SAKAGAMI *et al.*, 2000; WANG *et al.*, 1999; LEE *et al.*, 1999; SHAO *et al.*, 1996; GEORGE, 1965) e, portanto, podem ter contribuído para a atividade antitumoral observada, necessitando de maiores investigações para determinar os responsáveis por essa atividade.

Em relação ao extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada*, foi observada atividade antitumoral somente na concentração de 1000 µg/mL, reduzindo em 61,63% a viabilidade celular, com IC₅₀ de 624,2 µg/mL. A eficácia apresentada por este extrato foi de 64,95%, comparada ao o fármaco padrão (percentual de morte celular de 94,89%) e IS de 0,264 (Figura 32; Tabela 9).

Não foram encontrados na literatura dados referentes a atividade antitumoral desta espécie, no entanto outras do gênero *Banisteriopsis* tem apresentado potencial ação. Da espécie *Banisteriopsis anisandra* foi isolado um composto, fenantreno (2,8-dihidroxi-6-metoxi-7-metil-9,10-diidrofenantreno-1-carbaldeído), que apresentou atividade antitumoral frente às linhagens MeWo, CT26.WT e B16-F10, com IC₅₀ de 5,0 µg/mL, 4,0 µg/mL e 8,0 µg/mL, respectivamente, com seletividade maior sobre às células tumorais (FREITAS *et al.*, 2015). Os extratos aquosos das raízes e do tronco de *Banisteriopsis caapi* apresentaram citotoxicidade para a linhagem HL-60 (células de leucemia promielocíticas humanas) com IC₅₀ de 23 e 29 µg/mL, respectivamente (SAMOYLENKO *et al.*, 2010).

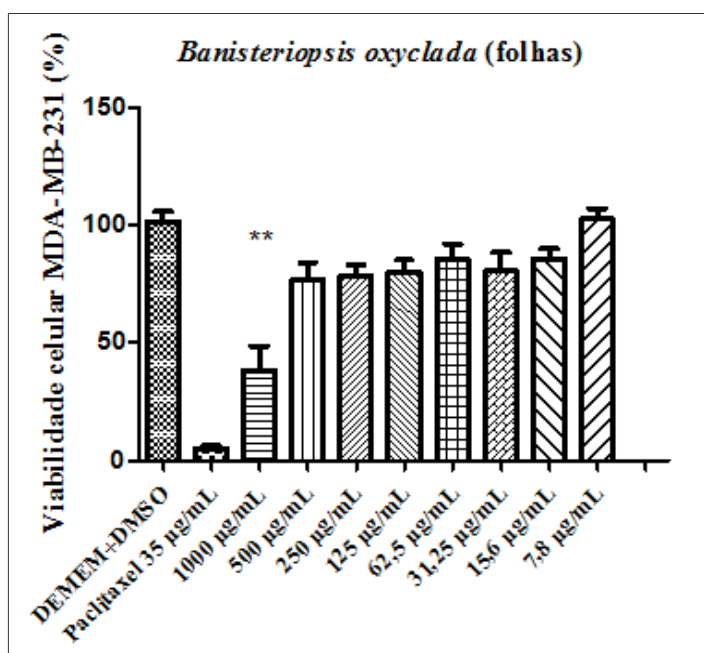


Figura 32: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de *Banisteriopsis oxyclada* sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o

controle negativo de morte (DEM+DMSO). (**) corresponde a diferenças significativas com $p \leq 0,01$, considerando intervalo de confiança de 95%.

Terpenóides são compostos descritos por apresentarem atividade citotóxica (KOVÁCS *et al.*, 2008). Metabólitos de natureza terpênica (triterpenos/esteróides) foram encontrados na triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* (Tabela 1 – Anexo B), sugerindo que a toxicidade sobre MDA-MB-231 pode estar associada a esse tipo de metabólito. Além desta classe de metabólito, estavam presentes neste extrato flavonóides, taninos e saponinas (Tabela 1 – Anexo B), substâncias também descritas na literatura por apresentarem atividade antitumoral (KANADASWAMI *et al.*, 2005; CHAHAR *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 1999; DUFRENSE & FARNWORTH, 2001; SHAO *et al.*, 1996; LEE *et al.*, 1999) e que também podem ter contribuído com a atividade observada para o extrato de etanólico das folhas de *B. oxyclada*.

O extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk. apresentou atividade antitumoral sobre MDA-MB-231 nas concentrações de 1000 a 500 $\mu\text{g/mL}$ (redução da viabilidade celular variando de 55,58% a 39,17%), IC_{50} de 380,4 $\mu\text{g/mL}$ e eficácia de 58,15% a 40,98%, em relação ao paclitaxel (redução da viabilidade celular de 95,58%) e IS de 1,537 (Figura 33; Tabela 9). De todos os extratos avaliados quanto à atividade antitumoral, o extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk foi o que apresentou maior índice de seletividade (IS de 1,537), demonstrando ser o mais seletivo frente à linhagem L929 entre os extratos avaliados.

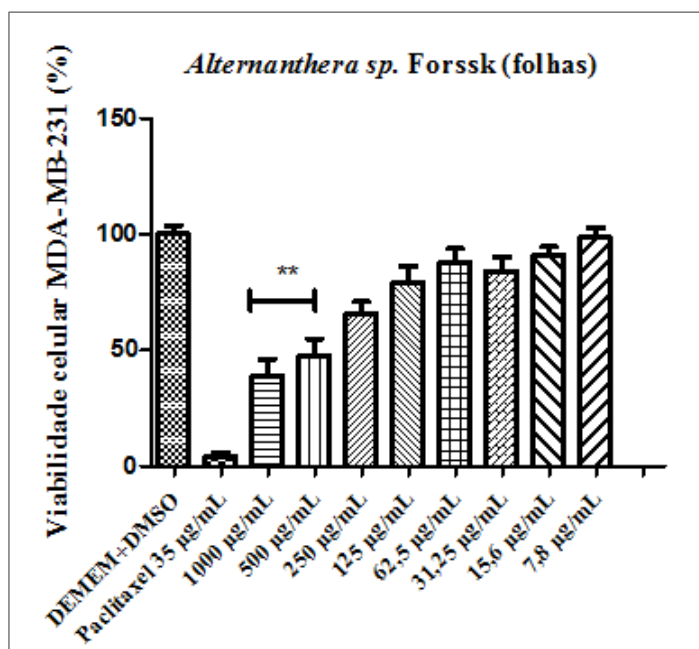


Figura 33: Avaliação da atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas de *Alternanthera sp.* Forssk sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEMEM+DMSO). (**) corresponde a diferenças significativas com $p \leq 0,01$, considerando intervalo de confiança de 95%.

Vários estudos demonstram que espécies pertencentes a este gênero apresentaram atividade antitumoral. Exemplificando, o extrato hexânico das folhas de *Alternanthera dentata* apresentou baixa citotoxicidade para a linhagem celular de carcinoma cervical (HeLa) e adenocarcinoma de mama (MCF-7), com IC_{50} de 478,98 e 363,45 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (DHANYA *et al.*, 2013), semelhantemente aos resultados obtidos para *Alternanthera* Forssk. Samudrala *et al.* (2015) avaliaram a atividade antitumoral do extrato acetato de etila de *A. brasiliiana* sobre carcinoma ascético de Ehrlich em camundongos e o mesmo apresentou uma potente atividade antitumoral, dose-dependente, que foi comparável à de 5-fluorouracila. Da fração n-butil do extrato alcoólico de *A. philoxeroides* foi isolado o ácido oleanólico (triterpenóide) que mostrou um significativo efeito contra células HeLa e L929, com 91,3% e 92,9% de inibição do crescimento, respectivamente (FANG *et al.*, 2009a). Das partes aéreas desta mesma espécie foram isoladas quatro saponinas triterpênicas que mostraram atividades citotóxicas contra a linhagem celular SK-N-SH (neuroblastoma) e HL-60 (células de leucemia promielocíticas humanas) (FANG *et al.*, 2009b).

Estas duas classes de metabólitos secundários, responsáveis pela atividade antitumoral apresentada nos extratos de *A. brasiliiana* e *A. philoxeroides*, também estavam presentes na triagem fitoquímica do extrato de *Alternanthera sp.* Forssk (Tabela 1 – Anexo B). Além destas classes, flavonóides e taninos foram detectados e são detentores de propriedades antitumorais (KANDASWAMI *et al.*, 2005; CHAHAR *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 1999; DUFRENSE & FARNWORTH, 2001).

O extrato etanólico das folhas de *P. rigida* foi o único extrato que não apresentou redução significativa das células MDA-MB-231, em nenhuma das concentrações testadas, em relação ao controle negativo de morte (Figura 34; Tabela 9).

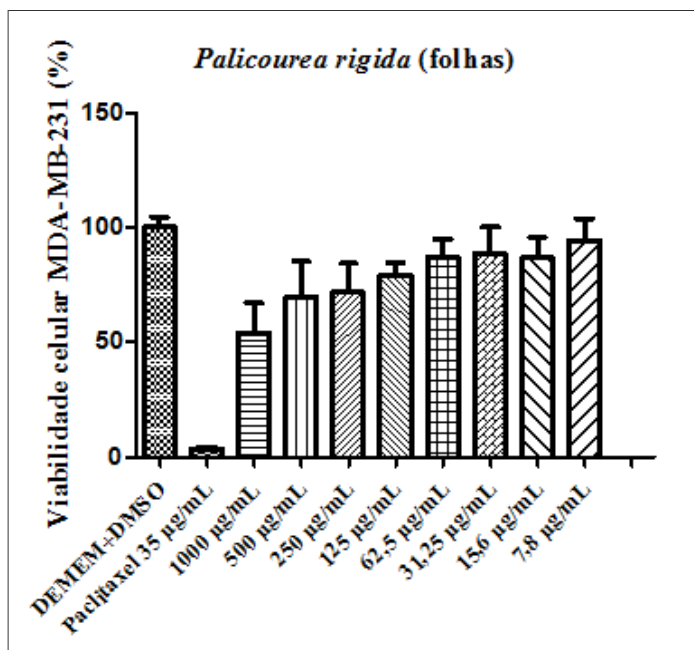


Figura 34:

atividade antitumoral

das folhas de *Palicourea rigida* sobre MDA-MB-231. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (DEMEM+DMSO).

Avaliação da
do extrato etanólico

Nos estudos de Soares *et al.* (2012) e Silva *et al.* (2006), foi isolado um alcalóide indólico (Vallesiachotamine) das partes aéreas e folhas de *P. rigida*, que exibiu importante atividade frente às células de melanoma humano, SK-MEL-37 (IC₅₀ de 16 µg/mL). Esta classe de metabólito também foi identificada na triagem fitoquímica do extrato desta espécie no presente estudo (Tabela 1 – Anexo B). Dessa forma, seria esperado que o extrato de *P. rigida* também apresentasse atividade antitumoral. Entretanto, diferenças entre as frações dos extratos e a linhagem de célula tumoral utilizada, poderiam justificar a divergência nos resultados. Além disso, sabe-se que uma mesma espécie vegetal oriunda de diferentes regiões e expostas a diferentes condições climáticas e ambientais podem sofrer influência no conteúdo e na quantidade de metabólitos secundários, qualitativa e quantitativamente, o que poderia também contribuir para as diferenças observadas nestes estudos (GOBBO-NETO, 2007). Por outro lado, semelhantemente aos dados aqui apresentados, não foi observada atividade antitumoral em outros estudos realizados com esta mesma espécie. O extrato bruto etanólico das folhas de *P. rigida* não apresentou toxicidade frente a *A. salina* (LIMA *et al.*, 2015).

5.2.3 Avaliação da atividade tripanocida dos extratos

Os testes de avaliação da atividade tripanocida foram preliminares de forma que a triagem dos extratos foi realizada utilizando as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *T. cruzi*, que representa um protótipo de resistência ao benzonidazol, fármaco padrão, conforme determinado por Filardi & Brener (1987).

A eficácia dos extratos foi comparada em relação ao fármaco padrão benzonidazol (considerado como 100% de eficácia), levando a uma redução variável da viabilidade da cepa Colombiana de *T. cruzi*. Este apresentou uma redução média de $63,19 \pm 6,66$ para esta cepa com IC_{50} de $14,25 \mu\text{g/mL}$ e IS de 9,36.

Dos extratos avaliados para a atividade tripanocida os que apresentaram atividade com eficácia igual ou superior ao benzonidazol e redução da viabilidade parasitária entre 78% a 60% foram os extratos etanólicos das folhas de *A. aculeata*, das folhas de *E. erythropappus*, das folhas de *P. tomentosa*, da raiz de *C. ovalifolia*, das partes aéreas de *E. horridum* e das folhas de *B. oxyclada*. Os extratos das folhas de *C. adamantium*, de toda espécie *T. cathartica* e das folhas de *P. rigida* apresentaram eficácia entre 100% a 70%, reduzindo a viabilidade parasitária de 69% a 50% (Tabela 10).

Tabela 10: Avaliação da atividade tripanocida dos extratos etanólicos das espécies vegetais sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanosoma cruzi*.

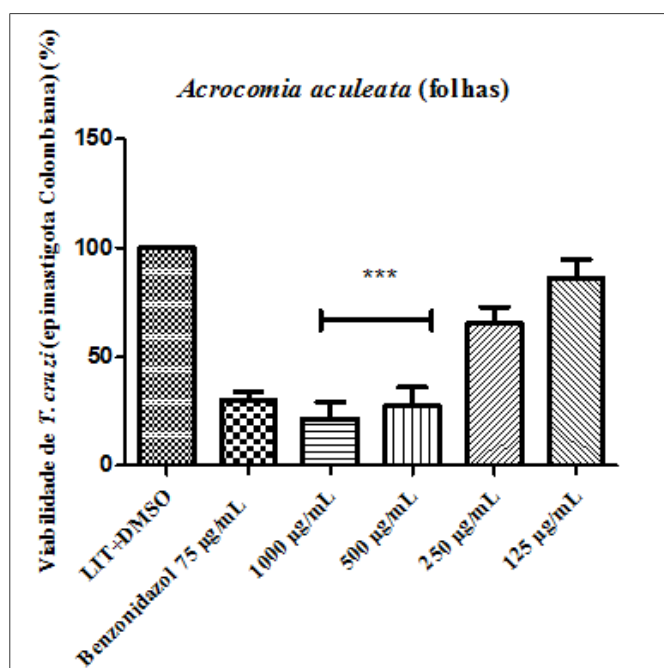
Atividade Tripanocida (Cepa Colombiana)						
Plantas	Parte utilizada	Faixa de Concentrações Ativas (Fc) (µg/mL)	Redução da viabilidade parasitária (Rp) (%)	IC ₅₀ (µg/mL)	Eficácia (E) (%)	Índice de Seletividade (IS)
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	-	—	-	-	-
<i>Acrocomia aculeata</i>	Folhas	1000 a 500	78,36 a 72,29	366,3	112,12 a 103,43	0,459
<i>Alternanthera sp. Forssk</i>	Folhas	-	—	-	-	-
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	1000 a 500	66,88 a 47,32	360,5	100,54 a 71,13	0,457
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	1000 a 500	68,18 a 64,08	310,4	96,48 a 90,67	0,366
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	-	—	-	-	-
	Raiz	1000 a 500	56,88 a 54,59	322	103,32 a 99,16	0,289
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	1000 a 250	65,42 a 61,62	197,3	105,11 a 99	0,257
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	100 a 500	57,22 a 57,53	347,3	102,24 a 97,36	0,676
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	1000 a 500	55,04 a 42,94	467,4	77,88 a 60,76	0,764
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	1000 a 250	51,57 a 51,68	288,1	103,44 a 70,18	1,278
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	-	—	-	-	-
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	1000 a 500	59,00 a 55,86	205,4	83,48 a 79,04	0,816

Benzonidazol 75 µg/mL (fármaco padrão): 100% de eficácia, redução média da viabilidade parasitária de $63,19 \pm 6,66$, IC₅₀ de 14,25 µg/mL e IS de 9,36.

Fc = faixa de concentrações ativas (diferenças significativas em $p < 0,05$ intervalo de confiança de 95% comparada aos respectivos controles negativos ou de viabilidades celulares); Rp = redução da viabilidade parasitária observadas para a maior e menor concentração ativa do extrato; IC₅₀ = Concentração que inibe 50% das formas epimastigotas; IS = Índice de Seletividade; E = eficácia observada comparada com o benzonidazol, considerado como 100% de atividade; (-) = extratos que não apresentaram redução de viabilidade igual ou superior a 50% nas concentrações testadas no estudo, não sendo possível calcular a IC₅₀ e IS. Os resultados apresentam a avaliação de três experimentos independentes realizados em triplicata.

O extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* foi o que apresentou melhor atividade tripanocida entre os extratos avaliados. Este foi ativo nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL (redução da viabilidade da cepa Colombiana de 78,36% e 72,29%, respectivamente), IC₅₀ de 366,3 µg/mL e IS de 0,459. Em todas as concentrações ativas o extrato foi mais eficaz do que o benzonidazol (fármaco padrão), que levou a uma redução da viabilidade parasitária em 60,89%, quando comparada às células L929. A eficácia deste extrato foi de 112,12% e 103,43%, respectivamente, considerando a faixa de concentrações ativas (Figura 35; Tabela 10). Contudo, seu IS revelou ausência de seletividade deste extrato para a cepa Colombiana de *T. cruzi*, quando comparado com a linhagem de células normais de camundongos L929. Desta forma, considerando a promissora atividade tripanocida deste extrato, deve-se promover fracionamento e isolamento da(s) substância(s) responsável(éis) pela atividade tripanocida e, verificar se estariam ou não, associadas à citotoxicidade observada para células de mamíferos, uma vez que em um extrato bruto estão presentes várias substâncias, que poderiam agir sinergicamente, contribuindo para a toxicidade observada.

Figura 35: Avaliação tripanocida do extrato *Acrocomia aculeata* epimastigotas da cepa *Trypanosoma cruzi*. expressos como média viabilidade celular ±



da atividade etanólico das folhas sobre as formas Colombiana de *Trypanosoma cruzi*. Os resultados foram do percentual de desvio padrão de três

experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (***) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,0001$, considerando intervalo de confiança de 95%.

Espécies da mesma família botânica (Arecaceae) que *A. aculeata* tem também apresentado atividade antitripanossomatídeo. O extrato metanólico proveniente das sementes de *Phoenix dactylifera*, por exemplo, apresentou toxicidade para *Leishmania infantum*, *Trypanossoma cruzi* e *Trypanossoma brucei*, com IC₅₀ de 32,5 µg/mL e IS > 2,0; IC₅₀ de 46,5 µg/mL e IS > 1,4 e IC₅₀ de 36,2 µg/mL e IS > 1,8, respectivamente (AL-MUSAYEIB *et al.*, 2012a).

A triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* revelou a presença de cumarinas e flavonóides (Tabela 1 – Anexo B), que são classes de metabólitos descritas por apresentarem atividade contra *T. cruzi*. Segundo Reyes-Chilpa *et al.* (2008) cumarinas isoladas de *Calophyllum brasiliense* apresentaram atividade contra epimastigotas da cepa H6 de *T. cruzi*. Já uma cumarina prenilada isolada de *Polygala sabulosa* (Polygalaceae) mostrou-se ativa contra as formas epimastigotas e tripomastigotas da cepa Y de *T. cruzi* com IC₅₀ 10,5 µg/mL e 88,2 µg/mL, respectivamente (PIZZOLATTI *et al.*, 2008). Os flavonóides, isocaempferide e apigenina, isolados de *Dracocephalum kotschy* causaram letalidade nas formas epimastigotas de *T. cruzi* (GOHARI *et al.*, 2003). Os flavonóides, hispidulina e santina, isolados de *Ambrosia tenuifolia* e *Eupatorium buniifolium*, respectivamente, exibiram atividade contra as formas epimastigotas e tripomastigotas de *T. cruzi* (SULSEN *et al.*, 2007). A ação tripanocida dos flavonóides e cumarinas parece estar associada a inibição da via glicolítica deste parasito (DIAS *et al.*, 2009; TOMAZELA *et al.*, 2000). Dessa forma, a atividade tripanocida apresentada pelo extrato de *A. aculeata* poderia estar relacionada com a presença destas duas classes de metabólitos secundários que foram detectados em sua composição química. Então, considerando a elevada eficácia observada com relação ao fármaco padrão, recomenda-se o prosseguimento dos estudos desta planta, a fim de elucidar os componentes responsáveis por esta atividade e, se comprovada a atividade e menor toxicidade, a avaliação mais aprofundada em outros modelos *in vitro* e *in vivo*.

O extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus* também apresentou atividade tripanocida nas concentrações de 1000 a 250 µg/mL, mas com uma menor redução da viabilidade da cepa Colombiana, que variou de 65,42% a 61,62%. Ele foi o segundo extrato com maior atividade e o que apresentou menor IC₅₀ (197,3µg/mL). Sua eficácia foi igual ou superior ao benzonidazol (percentual de morte parasitária de 62,24%) , em praticamente todas as concentrações ativas (eficácia de 105,11% a 99,00%) e IS de 0,257, indicando uma

baixa seletividade também deste extrato sobre as formas parasitárias quando comparado com as células normais (Figura 36; Tabela 10).

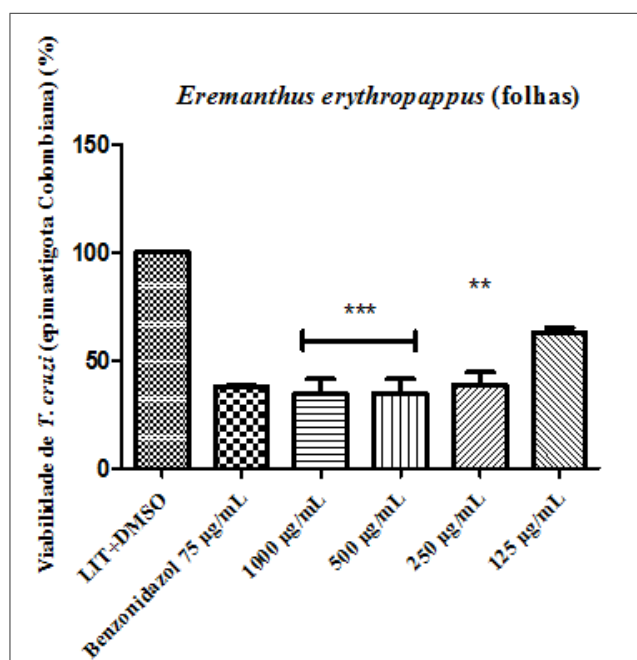


Figura 36: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de *Eremanthus erythropappus*, sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanosoma cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (**) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Não existem estudos que tenham avaliado a atividade tripanocida desta espécie ou gênero, contudo outras espécies pertencentes à sua família botânica (Asteraceae) também apresentaram promissora ação antiparasitária. Das partes aéreas de *Alomia myriadenia* foi isolado um diterpeno (halimane), que causou lise de 100% das tripomastigotas sanguíneas da cepa Y de *T. cruzi* na concentração de 250 µg/mL (SCIO *et al.*, 2003). Segundo Takeara *et al.* (2003) o extrato metanólico das folhas de *Lychnophora staavioides* mostrou significativa atividade tripanocida com 98,8% de lise das tripomastigotas na concentração de 4 mg/mL. Este foi submetido ao fracionamento e entre as substâncias isoladas, o flavonóide quercetina 3-metil éter apresentou significativa atividade tripanocida, induzindo a morte de 63,2% dos tripomastigotas na concentração de 500 µg/mL. *Ambrosia tenuifolia* foi submetida ao fracionamento que levou ao isolamento de duas lactonas sesquiterpênicas bioativas com significativa atividade tripanocida. Estas foram identificadas como psilostachyina e peruvina. Ambas mostraram uma relevante atividade tripanocida *in vitro* contra as formas epimastigotas

de *T. cruzi* com $IC_{50} < 2 \mu\text{g/mL}$. A lactona sesquiterpênica, psilostachyina exerceu uma atividade significativa *in vitro* contra as formas tripomastigotas de *T. cruzi* (IC_{50} de 0,76 $\mu\text{g/mL}$) e, camundongos tratados com este composto tiveram uma sobrevida de 100% (SULSEN *et al.*, 2008).

Dessa forma, a atividade tripanocida apresentada pelo extrato de *E. erythropappus* também pode ser relacionada a presença de flavonóides e terpenóides, como foi verificado para outras espécies de sua família botânica. Além destes metabólitos, este extrato apresentou antraquinonas (Tabela 1 – Anexo B), que também tiveram comprovada propriedade tripanocida, conforme descrito por Neves-Pinto *et al.* (2002) e Silva *et al.* (1992). Apesar da boa atividade apresentada, o extrato foi bastante citotóxico também sobre as células de mamíferos, o que deve estar, provavelmente, relacionado à presença de lactonas sesquiterpênicas comumente relatadas para este gênero (VICHNEWSKI *et al.*, 1999; BOHLMANN *et al.*, 1980; VICHNEWSKI *et al.*, 1977) e que apresentam dose terapêutica bem próxima da tóxica (PICMAN, 1986; SCHMIDT, 1999). Assim, é necessário o isolamento da substância ativa, para maiores investigações quanto a estas propriedades.

A avaliação do extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa* mostrou atividade tripanocida nas concentrações de 1000 a 250 $\mu\text{g/mL}$, levando a uma redução da viabilidade da cepa Colombiana de 51,57% a 51,68%, na faixa de concentrações ativas. O IC_{50} foi de 288,1 $\mu\text{g/mL}$, a eficácia comparada com o benzonidazol (percentual de morte parasitária de 55,98%) foi de 103,44% a 70,18%, sendo mais eficaz que este na maior concentração ativa, e IS de 1,278 (Figura 37; Tabela 10). Embora seu IS tenha sido o maior de todos os extratos testados que apresentaram atividade tripanocida, este ainda encontra-se aquém para o desejado. Contudo, é importante considerar que o extrato trata-se de uma mistura complexa e devido a importante atividade observada, recomenda-se o fracionamento e investigação mais detalhada das atividades e da toxicidade relacionada.

Outras plantas de sua família botânica, a Malpighiaceae, também apresentam atividade tripanocida, mas com melhor seletividade associada. Por exemplo, o extrato metanólico de *Acridocarpus socotranus* mostrou ser ativo contra *Trypanosoma brucei* e *T. cruzi* (MOTHANA *et al.*, 2012). O fracionamento do extrato etanólico das folhas de *Byrsonima crassifolia* produziu frações que apresentaram atividade frente às formas tripomastigotas de *T. cruzi*, sendo que saponinas triterpênicas, terpenóides e flavonóides estavam presentes (BERGER *et al.*, 1998).

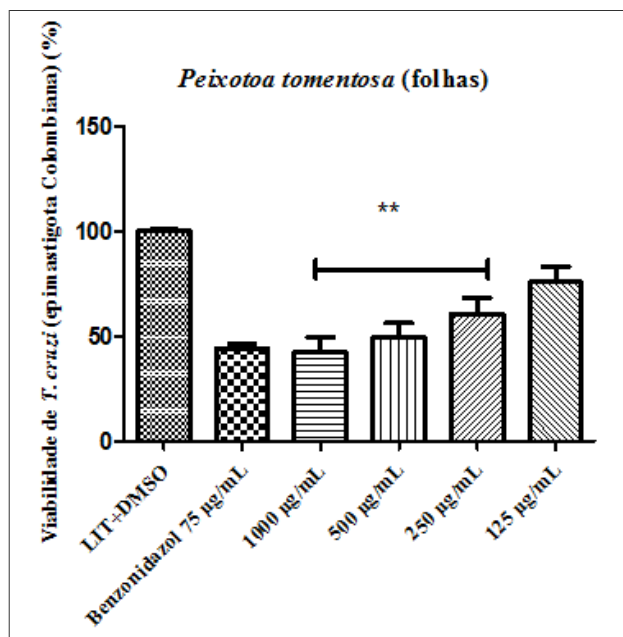
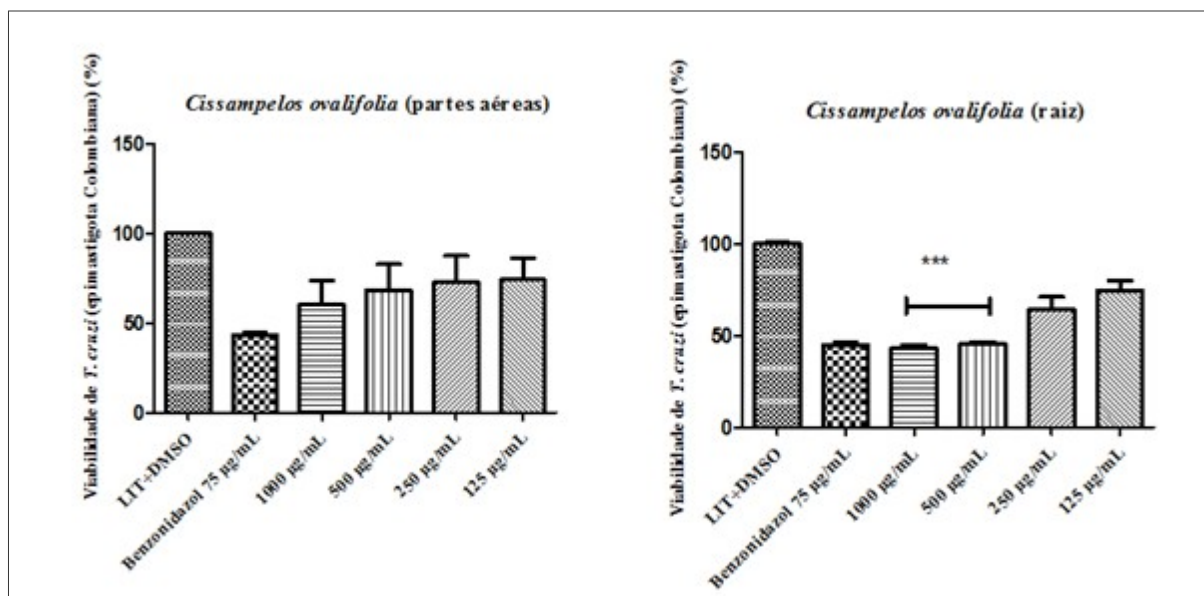


Figura 37: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de *Peixotoa tomentosa*, sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanosoma cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (**) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,01$, considerando intervalo de confiança de 95%.

Estes metabólitos também foram detectados na triagem fitoquímica preliminar de *P. tomentosa* (Tabela 1 – Anexo B), o que sugere que os mesmos possam ser os responsáveis pela atividade tripanocida. A espécie *B. oxyclada* avaliada no presente estudo e da mesma família Malpighiaceae, também apresentou as mesmas classes de metabólitos e foi ativa contra o *T. cruzi*. Estes dados reforçam a hipótese de serem os possíveis responsáveis pela atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa*.

Para a espécie *C. ovalifolia* o extrato etanólico de suas partes aéreas não apresentou atividade tripanocida frente à cepa Colombiana. Por outro lado, o extrato etanólico de sua raiz foi ativo nas concentrações de 1000 e 500 $\mu\text{g/mL}$, com redução da viabilidade da cepa Colombiana de 56,88% e 54,59%, respectivamente. A IC_{50} foi de 322,0 $\mu\text{g/mL}$, com eficácia comparada ao benzonidazol (percentagem de morte parasitária de 55,06%), de 103,32% e 99,16%, respectivamente, nas concentrações ativas e, IS de 0,289 (Figura 38; Tabela 10), revelando também uma baixa seletividade sobre as células parasitárias quando avaliada comparativamente frente as células normais.

Figura 38: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das partes aéreas e raiz de *Cissampelos ovalifolia*, sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanossoma cruzi* respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (***) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,0001$, considerando intervalo de confiança de 95%.



Corroborando os dados aqui apresentados, Tempone *et al.* (2005) verificaram que o extrato rico em alcalóides desta espécie matou 100% das formas tripomastigotas de *T. cruzi*. Alcalóides isolados de espécies de sua família botânica (Menispermaceae) também apresentaram atividade tripanocida. Como exemplo, vários alcalóides bisbenziquinolínicos, isolados de *Triclisia patens*, exibiram significativa atividade tripanocida contra formas tripomastigotas de *Trypanossoma brucei* com IC_{50} variando de 1,14 μ M a 8,22 μ M (CAMACHO *et al.*, 2002).

Diante do exposto, sugere-se que a ausência de atividade tripanocida do extrato das partes aéreas de *C. ovalifolia*, possa estar relacionada com a ausência de alcalóides em sua composição, visto que foram encontrados no extrato da raiz desta planta e de outras da família que apresentaram atividade e, todas as outras classes detectadas no extrato da raiz foram também encontradas no extrato das partes aéreas (Tabela 1 – Anexo B).

Na triagem fitoquímica do extrato da raiz de *C. ovalifolia* também foram encontrados terpenóides e flavonóides, que são descritos por apresentarem atividade tripanocida (LEITE *et al.*, 2010; RAMÍREZ *et al.*, 2003; RUBIO *et al.*, 2005; AMBROZIN *et al.*, 2008; SAEIDNIA *et al.*, 2004), o que poderia ter contribuído para a atividade tripanocida deste

extrato. Por exemplo, das partes aéreas de *Cissampelos parreira* foi isolado um flavonóide que apresentou significativa atividade contra *T. cruzi* e *T. brucei* (RAMÍREZ *et al.*, 2003). Assim, torna-se evidente a necessidade de maiores investigações quanto ao perfil químico e atividade associada a estes componentes presentes no extrato, após fracionamento.

O extrato etanólico oriundo das partes aéreas de *E. horridum* foi ativo nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, com redução da viabilidade da cepa Colombiana em 57,22% e 57,53%, respectivamente, e IC₅₀ de 347,3 µg/mL. Este extrato apresentou boa eficácia em relação ao benzonidazol (percentual de morte parasitária de 55,97%), de 102,24% e 97,36%, respectivamente, na faixa de concentrações ativas e, IS de 0,676 (Figura 39; Tabela 10).

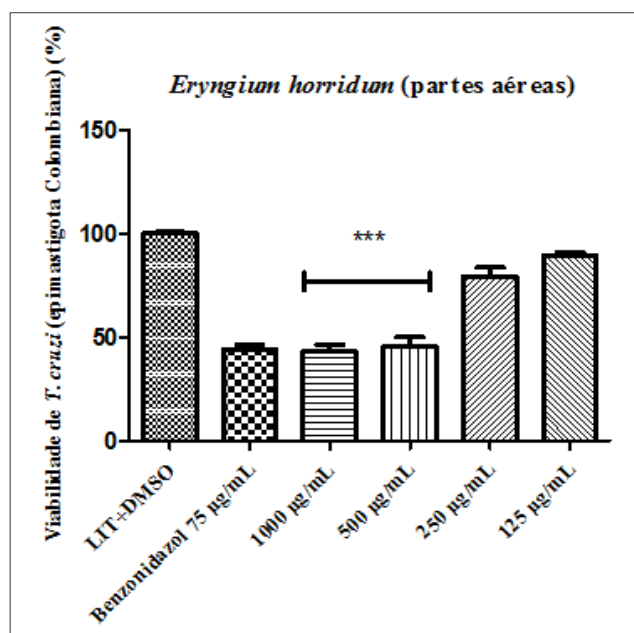


Figura 39: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das partes aéreas de *Eryngium horridum*, sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanosoma cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (***) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,0001$, considerando intervalo de confiança de 95%.

A espécie *Eryngium heterophyllum* pertencente ao gênero *Eryngium* também foi relatada por apresentar promissora atividade tripanocida. O extrato metanólico de suas partes aéreas ocasionou uma redução da viabilidade de 88,38% da cepa CL Brener de *T. cruzi*, com IC₅₀ de 11,24 µg/mL (MOLINA-GARZA *et al.*, 2014). Outras espécies vegetais pertencentes a mesma família botânica que a *E. horridum* (Apiaceae), também são reportadas por apresentarem potencial atividade contra *T. cruzi*. Segundo Ashour *et al.* (2014) o extrato

diclorometânico de *Bupleurum marginatum* (Apiaceae) apresentou atividade significativa contra *T. cruzi* com IC₅₀ de 36,21 µg/mL. Diterpenos característicos dos gêneros *Azorella* e *Mulinum* foram testados contra todas as formas evolutivas de três diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi*, sendo que o azorellanol e o ácido mulin-11,13-dien-20-óico apresentaram forte atividade em baixas concentrações frente a todas as formas evolutivas (ARAYA *et al.*, 2003).

Diterpenos pertencem à classe dos terpenóides, a qual foi detectada na triagem fitoquímica preliminar do extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum* (Tabela 1 – Anexo B). Dessa forma, esta classe de metabólito secundário pode ter contribuído para a atividade tripanocida observada para o mesmo. Além desta classe de metabólito, saponinas também foram encontradas neste extrato (Tabela 1 – Anexo B) e, por serem altamente tóxicas (PODOLAK *et al.*, 2010), poderiam ter contribuído para o baixo IS deste extrato.

O extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* foi ativo contra cepa Colombiana, nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, resultando em uma redução significativa da viabilidade de 66,88% e 47,32%, respectivamente. A IC₅₀ foi de 360,5 µg/mL e eficácia de 100,54% quando comparada ao benzonidazol (percentual de morte parasitária de 66,53%) na maior concentração ativa e 71,13% na menor concentração; contudo apresentando baixo IS (0,457) (Figura 40; Tabela 10).

Esta espécie não havia sido previamente avaliada quanto a atividade tripanocida, porém, ao avaliarem os extratos hexânico, etanólico, aquoso e metanólico da casca do caule e das folhas de *Byrsonima crassifolia*, pertencente à mesma família botânica, foi verificado que o extrato etanólico das folhas foi o mais ativo contra as formas tripomastigotas de *T. cruzi* (IC₅₀ de 442,3 µg/mL). Foi observado um aumento da atividade tripanocida após fracionamento deste extrato com valores de IC₅₀ de 98,7 µg/mL, 89,3 µg/mL e 94,3 µg/mL para as três frações avaliadas. A análise química destas frações revelou a presença dos seguintes metabólitos secundários: saponinas triterpênicas, terpenóides e flavonóides (BERGER *et al.*, 1998).

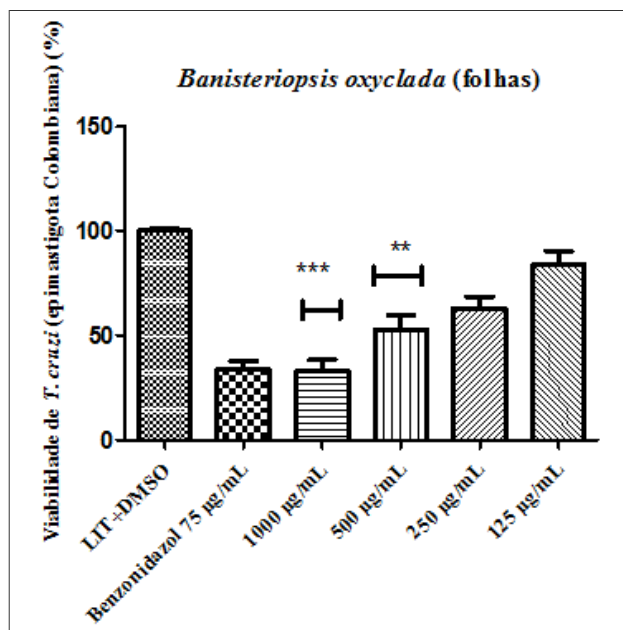


Figura 40: Avaliação da extrato etanólico das *oxyclada* sobre as

cepa Colombiana de *Trypanossoma cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (**) e (***) correspondem as diferenças significativas com $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

atividade tripanocida do folhas *Banisteriopsis* formas epimastigotas da

A triagem fitoquímica do extrato de *B. oxyclada* também demonstrou a presença destas mesmas classes de metabólitos (Tabela 1 – Anexo B). Assim sendo, a atividade tripanocida apresentada por este extrato, pode estar associada à presença destas classes de metabólitos e, assim como para o extrato de *B. crassifolia*, o fracionamento do extrato de *B. oxyclada* poderia fornecer frações com uma melhor atividade tripanocida e, talvez, com menor toxicidade do que a observada para o extrato bruto.

O extrato etanólico oriundo das folhas de *C. adamantium* foi ativo contra a cepa Colombiana nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, levando a uma redução da viabilidade desta cepa de 68,18% e 64,08%, respectivamente. A IC_{50} foi de 310,4 µg/mL, com eficácia de 96,48% e 90,67%, respectivamente, quando comparada ao benzonidazol (percentual de morte parasitária de 70,67%) e IS de 0,366 (Figura 41; Tabela 10). Também foi um extrato com uma boa eficácia quando comparada com o benzonidazol e, o segundo que apresentou maior redução da viabilidade da cepa Colombiana de *T. cruzi*, contudo com baixa seletividade de ação em relação as células normais de mamíferos.

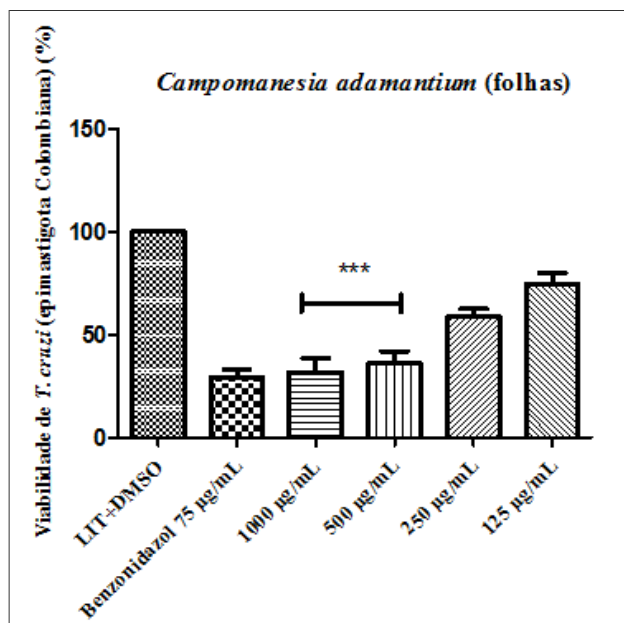


Figura 41: Avaliação da extrato etanólico das

adamantium sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanossoma cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (***) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,0001$, considerando intervalo de confiança de 95%.

atividade tripanocida do folhas *Campomanesia*

Espécies vegetais da família Myrtaceae, da qual *C. adamantium* faz parte, são descritas na literatura por possuírem promissora atividade contra *T. cruzi*. Como exemplo, o extrato das partes aéreas de *Myrcia variabilis* foi ativo sobre a cepa Y de *T. cruzi* com IC_{50} de 38,4 $\mu\text{g/mL}$. Este extrato ao ser analisado quimicamente apresentou como constituinte majoritário o ácido ursólico, um triterpeno, que foi sugerido como responsável pela atividade tripanocida observada (CUNHA *et al.*, 2009). O extrato etanólico das folhas de *Eugenia uniflora* apresentou atividade contra as formas amastigotas da cepa CL-B5 de *T. cruzi* com IC_{50} de 62.76 $\mu\text{g/mL}$ (SANTOS *et al.*, 2012a). O óleo essencial de *Eugenia uniflora* apresentou atividade significativa sobre as formas epimastigotas de *T. cruzi* com IC_{50} de 70 $\mu\text{g/mL}$ e IS de 2,46 (AZEREDO, 2013). Segundo Santos *et al.* (2012b) o extrato etanólico de *Eugenia jambolana* foi ativo contra formas epimastigotas *T. cruzi* (clone CL-B5) com IC_{50} de 56,42 $\mu\text{g/mL}$.

Estes dados permitem sugerir que a atividade tripanocida observada para o extrato de *C. adamantium* está de acordo com a literatura para plantas desta família e, provavelmente, deve-se a presença de metabólitos da classe dos terpenóides (CUNHA *et al.*, 2009) e de flavonóides, que têm apresentado relatos dessa atividade (LEITE *et al.*, 2010; AMBROZIN

et al., 2008), e que foram as classes de metabólitos secundários detectadas na triagem fitoquímica do extrato desta espécie vegetal (Tabela 1 – Anexo B).

O extrato de toda a espécie de *T. cathartica* foi ativo contra a cepa Colombiana de *T. cruzi* nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, levando a uma redução da viabilidade desta cepa de 59,0% e 55,86%, respectivamente. A IC₅₀ foi de 205,4 µg/mL e a eficácia comparada ao fármaco padrão (percentual de morte parasitária de 70,67%) foi de 83,48% e 79,04%, respectivamente, e o IS de 0,816 (Figura 42; Tabela 10). Apesar de não ter sido observada uma boa seletividade de ação sobre as formas parasitárias quando comparada com as células L929, este foi o quinto extrato que conduziu a uma redução mais expressiva na viabilidade e, foi o segundo com menor IC₅₀ entre os extratos que apresentaram atividade tripanocida frente à cepa Colombiana. Consequentemente, estudos químicos mais aprofundados com o intuito de verificar se a substância detentora da atividade é a mesma responsável pela citotoxicidade, são necessários.

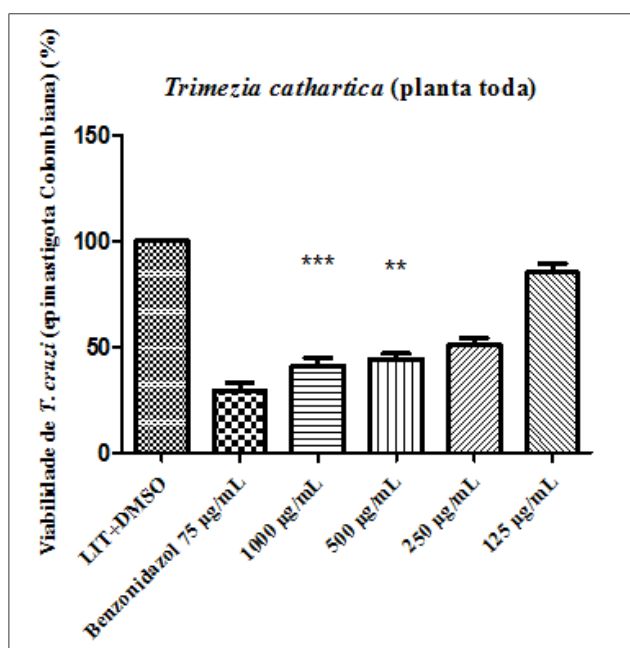


Figura 42: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico de toda a planta *Trimezia cathartica*, sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanossoma cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (**) e (***) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Não foram encontrados estudos concernentes a esta atividade para esta espécie ou outras do gênero. De acordo com o estudo realizado por Al-Musayeb *et al.* (2012a), o extrato metanólico das raízes de *Iris germanica*, pertencente a mesma família botânica que *T.*

cathartica (Iridaceae), foi ativo contra *T. cruzi* e *T. brucei* com valores de IC₅₀ 24,6 e 8,2 µg/mL e IS de 2,6 e 7,8, respectivamente.

Na avaliação fitoquímica preliminar do extrato de *T. cathartica* foi detectada a presença de flavonóides, que é uma classe de metabólito secundário descrita por apresentar ação tripanocida (LEITE *et al.*, 2010; RIBEIRO *et al.*, 1997; SULSEN *et al.*, 2007), o que pode justificar a atividade apresentada por este extrato. De acordo com Sulsen *et al.* (2007) dois flavonóides, hispidulina e santina, tiveram atividade contra *T. cruzi*. Os valores IC₅₀ para hispidulina e santina sobre as formas epimastigotas foram 46,7 e 47,4 µM, respectivamente, e em tripomastigotas, os valores para IC₅₀ foram de 62,3 µM para hispidulina e 42,1 µM, para santina. Os flavonóides 5,4-hidroxi-7-methoxiflavona, 5,4-di-hidroxi-3,6,7-trimethoxiflavona (RIBEIRO *et al.*, 1997), cipadesina, febrigufina, mexicanolido e cipadesina A (LEITE *et al.*, 2010), também mostram ser substâncias ativas contra *T. cruzi*.

O extrato etanólico das folhas de *P. rigida* foi ativo nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, resultando em uma redução da viabilidade da cepa Colombiana de 55,04% e 42,94%, respectivamente, e uma IC₅₀ de 467,4 µg/mL. Quando comparada ao benzonidazol (percentual de morte parasitária de 70,67%) foi observada uma eficácia de 77,88% e 60,76%, respectivamente, e IS de 0,764 (Figura 43; Tabela 10). A redução da viabilidade da cepa Colombiana não foi tão expressiva como ocorreu em outros extratos, todavia em todas as concentrações a eficácia deste extrato foi maior que 60% em comparação com o benzonidazol, que é uma substância pura, o que demonstra a necessidade de prosseguir com estudos químicos mais aprofundados.

P. rigida pertence à família botânica Rubiaceae e, semelhantemente a esta espécie, outras desta família também apresentaram atividade tripanocida (ZULETA *et al.*, 2003; BALDÉ *et al.*, 2010). Extrato metanólico das folhas de *Morinda lucida* suprimiu significativamente o nível da parasitemia após infecção por *T. brucei* em camundongos (ASUZU & CHINEME, 1990). Os compostos monoterpênicos do tipo iridóide 7-Methoxididerrosido, 60-O-acetildiderrosido, secoxiloganina e diderrosido isolados a partir da casca de *Calycophyllum spruceanum* mostraram ser ativos *in vitro* contra as formas tripomastigotas de *T. cruzi*, com valores de IC₅₀ de 59,0; 90,2; 74,2 e 84,9 µg/mL, respectivamente (ZULETA *et al.*, 2003). Frações de alcalóides isoladas a partir das folhas de *Pavetta crassipes* exibiram atividade contra *T. cruzi*, com IC₅₀ variando de 1,75 µg/mL a 34,93 µg/mL (BALDÉ *et al.*, 2010). A triagem fitoquímica da espécie *P. rigida* também

revelou a presença de alcalóides (Tabela 1 – Anexo B), que também podem estar associados com a atividade tripanocida observada.

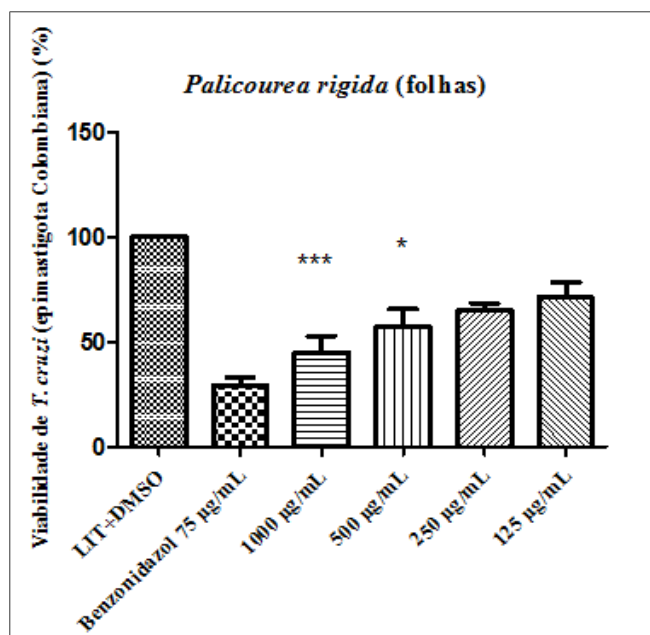


Figura 43: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de *Palicourea rigida*, sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanossoma cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (*) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

Terpenóides, antraquinonas e cumarina são classes de metabólitos que possuem atividade tripanocida também relatada (RUBIO *et al.*, 2005; LEITE *et al.*, 2013; NEVES-PINTO *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 1992; REYER-CHILPA *et al.*, 2008; VAZQUEZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2015) e foram encontrados em membros da família Rubiaceae. O extrato etanólico da casca da raiz de *Latifolia nauclea* diminuiu o nível de parasitemia de um modo dependente da dose em camundongos infectados experimentalmente com *T. brucei* (MADUBUNYI, 1996). Cinco saponinas triterpênicas foram isoladas das partes aéreas de *Mussaenda luteola*. Dentre estas, uma apresentou atividade potente contra *T. brucei* com IC_{50} de $8.80 \mu M$ e outras duas foram altamente potentes, com valores de IC_{50} variando entre $2.57-2.84 \mu M$ (MOHAMED *et al.*, 2015). Estas foram encontradas na triagem fitoquímica preliminar do extrato etanólico das folhas de *P. rigida* (Tabela 1 – Anexo B), de forma que poderiam contribuir para a atividade observada, necessitando de maiores investigações de quais são os componentes responsáveis pela atividade apresentada.

O extrato etanólico das folhas de *Alternanthera sp.* Forssk não apresentou atividade sobre a cepa Colombiana de *T. cruzi* (Figura 44; Tabela 10) e não foram encontrados estudos de avaliação da atividade tripanocida com espécies pertencentes a este gênero. Contudo, outras espécies de sua família botânica (Amaranthaceae) também foram inativas contra *T. cruzi*, como o extrato etanólico das raízes e rizomas de *Pfaffia glomerata* contra a cepa Y de *T. cruzi* (NETO *et al.*, 2004).

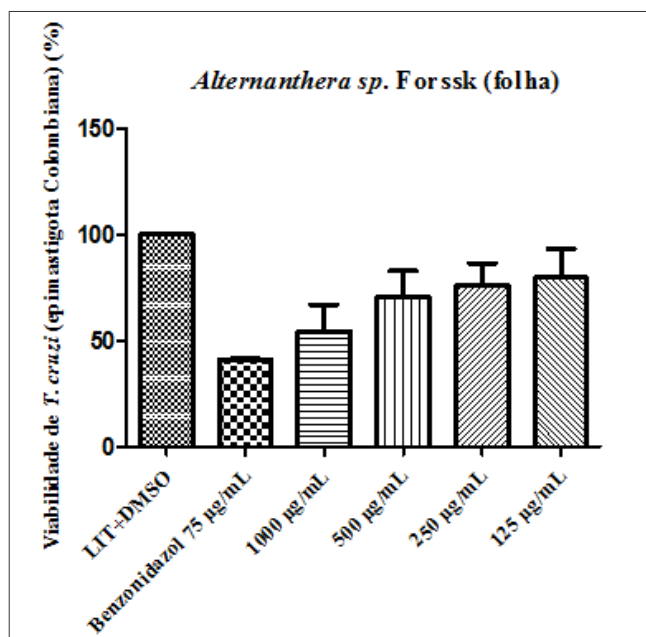


Figura 44: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas *Alternanthera sp.* Forssk sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanosoma cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO).

O extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum* não apresentou redução de viabilidade da cepa Colombiana significativa quando comparada com o controle de viabilidade (Figura 45; Tabela 10). Corroborando com nossos resultados, Machado *et al.* (2007) também não encontraram resultados satisfatórios para atividade tripanocida ao avaliarem o extrato bruto hexânico e metanólico das folhas e da casca do caule de *A. dasycarpum* sobre formas epimastigotas de *T. cruzi*. Em outro estudo, o extrato bruto hexânico desta mesma espécie, também não apresentou atividade sobre as formas epimastigotas da cepa Y de *T. cruzi* (NUNES, 2008).

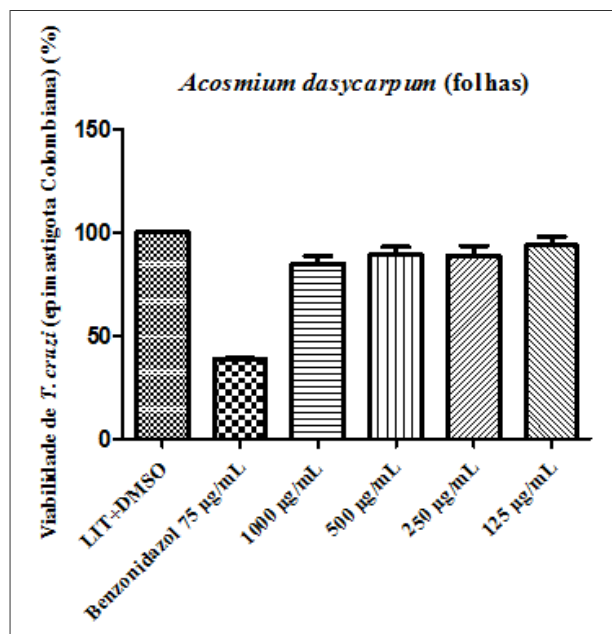


Figura 45: Avaliação da extrato etanólico das

dasycarpum sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanossoma cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO).

atividade tripanocida do
folhas *Acosmium*

Ausência de atividade tripanocida foi verificada para o extrato etanólico das folhas de *S. rugosa*, visto que não houve redução significativa da viabilidade parasitária em nenhuma das concentrações testadas, quando comparada com o controle de viabilidade (Figura 46; Tabela 10).

Não foram encontrados trabalhos que tenham avaliado a atividade tripanocida desta espécie. Contudo, algumas espécies deste gênero já foram estudadas e atividade tripanocida tem sido registrada. Para exemplificar, Jimenez-Coelho *et al.* (2011) avaliaram a atividade tripanocida do extrato clorofórmio das folhas de *Senna villosa* na fase sub-aguda de camundongos infectados com *T. cruzi*, sendo observada uma redução significativa no número de ninhos de amastigotas em tecido cardíaco dos animais tratados com todas as doses testadas. O mesmo foi observado para o composto ((8-hydroximethilen)-trieicosanil acetato) isolado do extrato clorofórmico desta mesma espécie (JIMENEZ-COELHO *et al.*, 2010). A espécie *Senna occidentalis* teve seu extrato etanólico investigado *in vivo* e *in viro* quanto a sua atividade tripanocida. O extrato bruto exibiu uma atividade *in vitro* contra *T. brucei*, visto que eliminou completamente a motilidade dos parasitas dentro de 10 minutos após a incubação com 6,66 mg/mL de extrato. Camundongos infectados com *T. brucei* e tratados com concentrações de 100 e 200 mg/kg de peso corporal, obtiveram uma parasitemia menor do que em animais infectados e não tratados (IBRAHIM *et al.*, 2010).

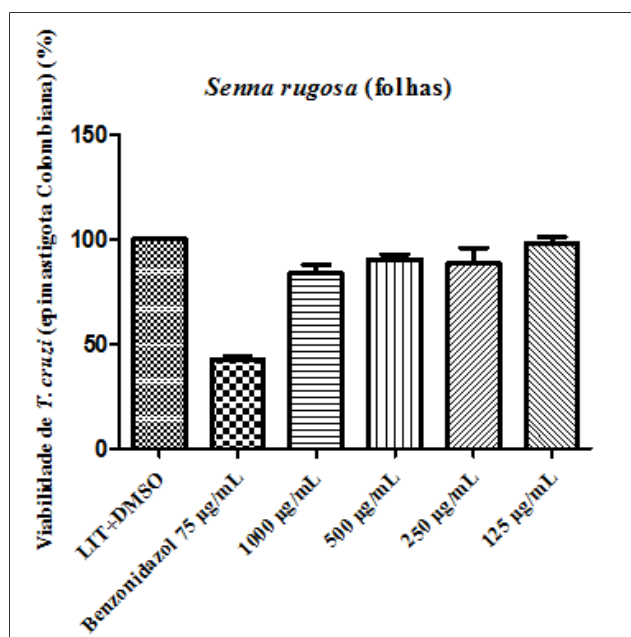


Figura 46: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de *Senna rugosa*, sobre as formas epimastigotas da cepa Colombiana de *Trypanossoma cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO).

Em relação aos estudos que foram citados, apesar de terem utilizado espécies do mesmo gênero, e os critérios quimiotaxonômicos serem uma ferramenta importante para direcionar estudos de plantas com potencial farmacológico, é preciso considerar que o perfil químico de plantas do mesmo gênero ou família podem apresentar diferenças qualitativas e quantitativas importantes em sua composição, devido a exposição ao longo de seu crescimento/desenvolvimento, de condições sazonais, luminosidade, temperatura, disponibilidade hídrica e solo diferentes, que podem alterar o conteúdo de seus metabólitos secundários (MONTEIRO *et al.*; 2005; GOBBO-NETO & LOPES, 2007), levando aos diferentes resultados observados, inclusive entre plantas da mesma espécie. Além disso, em muitos estudos, a parte da planta, o método de extração e avaliação da atividade foram distintos o que pode dificultar a comparação dos dados.

5.2.4 Avaliação da atividade leishmanicida dos extratos

Para a avaliação da atividade leishmanicida dos extratos foram utilizadas as formas promastigotas de *Leishmania infantum* (cepa WHO/BR/73/ BH46, modelo de Leishmaniose Visceral) e de *Leishmania amazonensis* (cepa WHO/BR/73/M2269, como modelo de Leishmaniose Tegumentar). Um número maior de extratos exibiu atividade contra a cepa M2269 quando comparado com a cepa BH46, o que seria esperado, uma vez que esta última é responsável por causar a leishmaniose visceral que, em muitos casos, é mais resistente a Anfotericina B (SUNDAR, 2001; GUERIN *et al.*, 2002).

A eficácia dos extratos foi comparada em relação ao fármaco padrão, anfotericina B (considerada como 100% de eficácia), levando a uma redução variável da viabilidade destas cepas. A anfotericina apresentou uma redução média da viabilidade parasitária de $92,72 \pm 3,65$, com IC_{50} de $0,346 \mu\text{g/mL}$ e IS 51,47 para a cepa BH46. Para a cepa M2269, esta levou a uma redução média da viabilidade parasitária de $96,76 \pm 0,39$, com IC_{50} de $0,319 \mu\text{g/mL}$ e IS de 55,90.

Contra a cepa M2269, os extratos etanólicos das folhas de *B. oxyclada* e *E. erythropappus* apresentaram eficácia máxima entre 80% a 90%, reduzindo a viabilidade parasitária em torno de 78%. Os extratos etanólicos das folhas de *A. aculeata*, da raiz de *C. ovalifolia* e das folhas de *P. tomentosa* apresentaram eficácia entre 70% a 79% com redução da viabilidade parasitária entre 75% a 68%. Já os extratos etanólicos das partes aéreas de *C. ovalifolia*, das folhas de *P. rigida*, de toda espécie *T. cathartica*, das partes aéreas de *E. horridum* e das folhas de *C. adamantium* apresentaram eficácia entre 50% a 70%, reduzindo a viabilidade parasitária entre 60% a 52% (Tabela 11).

Os extratos etanólicos das folhas de *E. erythropappus* e de toda espécie *T. cathartica* apresentaram eficácia entre 80% a 102% para cepa BH46, reduzindo sua viabilidade entre 91% a 80%. Já os extratos etanólicos das folhas de *A. aculeata*, das partes aéreas de *E. horridum*, das folhas de *P. rigida*, das folhas de *A. dasycarpum* e da raiz de *C. ovalifolia*, apresentaram eficácia entre 60% a 80%, com redução da viabilidade da cepa BH46 entre 75% a 65% (Tabela 11).

Tabela 11: Avaliação da atividade leishmanicida dos extratos etanólicos das espécies vegetais sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*.

Atividade Leishmanicida							
Plantas	Parte utilizada	Cepa utilizada	Faixa de Concentrações Ativas (Fc) (µg/mL)	Redução da viabilidade parasitária (Rp)	IC ₅₀ (µg/mL)	Eficácia (E) (%)	Índice de Seletividade (IS)
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	M2269	-	-	-	-	-
		BH46	1000 a 500	73,36 a 61,08	430	75,54 a 62,89	0,367
<i>Acrocomia aculeata</i>	Folhas	M2269	1000 a 500	68,98 a 58,00	387,5	71,16 a 59,83	0,434
		BH46	1000 a 500	65,18 a 58,61	48,3	67,92 a 61,07	0,483
<i>Alternanthera sp. Forssk</i>	Folhas	M229	-	-	-	-	-
		BH46	-	-	-	-	-
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	M2269	1000 a 500	78,04 a 73,11	267,9	80,5 a 75,41	0,614
		BH46	-	-	-	-	-
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	M2269	1000	59,81	629,4	61,68	0,18
		BH46	-	-	-	-	-
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	M2269	1000	51,92	648	53,55	0,144
		BH46	-	-	-	-	-
	Raiz	M2269	1000 a 250	70,57 a 62,97	203,5	72,8 a 64,95	0,458
		BH46	1000 a 250	71,87 a 61,42	209,1	76,58 a 65,44	0,446
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	M2269	1000 a 500	78,52 a 76,41	226,4	81,78 a 79,59	0,224
		BH46	1000 a 250	79,71 a 70,75	198,3	89,43 a 79,38	0,255
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	M2269	1000 a 500	59,61 a 41,55	467,8	61,49 a 42,86	0,502
		BH46	1000 a 500	62,17 a 60,82	249,8	70,06 a 68,55	0,94
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	M2269	1000	58,67	585,1	60,53	0,611
		BH46	1000	65,86	641,1	72,28	0,557
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	M2269	1000 a 500	74,57 a 69,37	249,6	77,67 a 72,25	1,475
		BH46	-	-	-	-	-

<i>Senna rugosa</i>	Folhas	M229	-	-	-	-	-
		BH46	-	-	-	19,88 a 1,13	-
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	M2269	1000 a 250	58,93 a 51,85	203,5	60,79 a 53,49	0,824
		BH46	1000 a 500	90,62 a 79,81	366,1	101,68 a 89,54	0,458

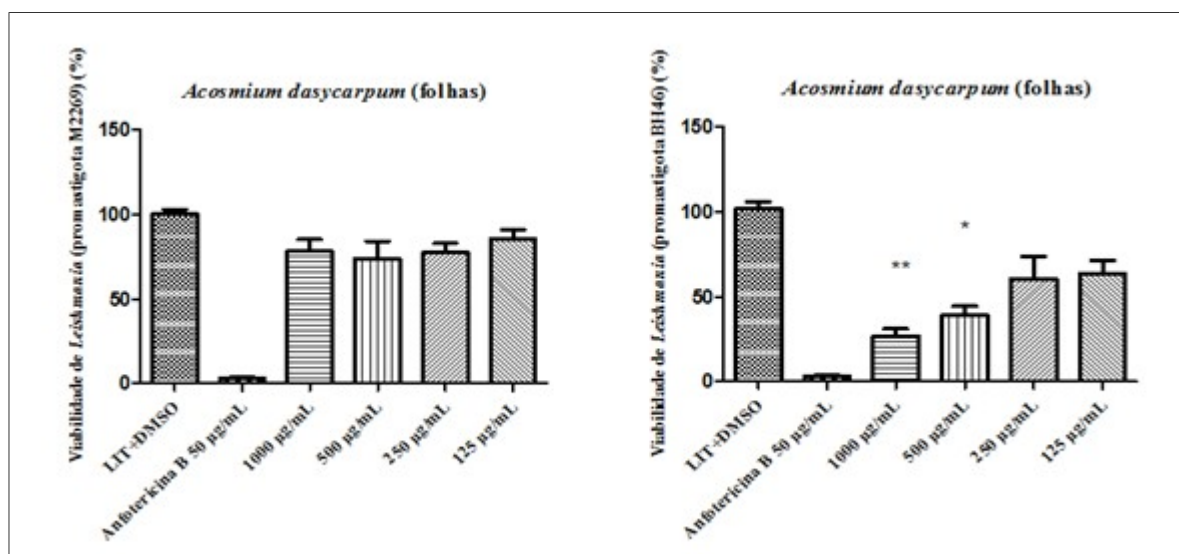
Anfotericina B 50 µg/mL para cepa BH46 (fármaco padrão): 100% de eficácia, redução média da viabilidade parasitária de $92,72 \pm 3,65$, IC₅₀ de 0,346 µg/mL e IS 51,47.

Anfotericina B 50 µg/mL para cepa M2269 (fármaco padrão): 100% de eficácia, redução média da viabilidade parasitária de $96,76 \pm 0,39$, IC₅₀ de 0,319 µg/mL e IS de 55,90.

Fc = faixa de concentrações ativas (diferenças significativas em $p < 0,05$, intervalo de confiança de 95% comparada aos respectivos controles negativos ou viabilidades); Rp = redução da viabilidade parasitária observadas para a maior e menor concentração ativa do extrato; IC₅₀ = Concentração que inibe 50% das células; IS = Índice de Seletividade; E = eficácia observada comparado como respectivos fármacos padrões considerados como 100% de atividade; (-) = extratos que não apresentaram redução de viabilidade igual ou superior a 50% nas concentrações testadas no estudo, não sendo possível calcular a IC₅₀ e IS. Os resultados apresentam a avaliação de três experimentos independentes realizados em triplicata.

O extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum* não apresentou atividade frente a cepa M2269 de *L. amazonensis*. Contudo, este exibiu atividade para a cepa BH46 de *L. infantum* nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, levando a uma redução da viabilidade parasitária de 73,36% e 61,08%, respectivamente. A IC₅₀ foi de 430 µg/mL e a eficácia comparada à anfotericina B (percentual de morte de 97,12%), foi de 75,54% e 62,89%, respectivamente, e IS de 0,367 (Figura 47; Tabela 11). Estes dados mostram que apesar deste extrato não ter apresentado um IS > 2, o mesmo apresentou eficácia superior a 60% em todas as concentrações ativas, em relação à anfotericina B que é uma substância pura, diferentemente de um extrato bruto, que contém várias substâncias químicas. Logo, estes dados demonstram que substâncias com ação leishmanicida estão presentes neste extrato, e que o isolamento destas poderia potencializar esta atividade e, talvez reduzir a toxicidade.

Figura 47: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de *Acosmium dasycarpum*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (*) e (**) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.



Os resultados encontrados quanto à atividade do extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum* para a atividade leishmanicida está em acordo com a literatura. Embora utilizando um extrato proveniente de outra parte da planta, Nunes (2008) verificou que o extrato bruto hexânico da casca do caule de *A. dasycarpum* foi ativo para *L. amazonensis* (IC₅₀ de 120,90 µg/mL e IS 1,09) e *L. chagasi* (IC₅₀ de 137,00 µg/mL e IS 0,96). Os IS encontrados para estes estudos são também baixos, assim como o do presente estudo. Em outro estudo, este mesmo extrato foi avaliado e foi encontrado um resultado satisfatório de atividade sobre

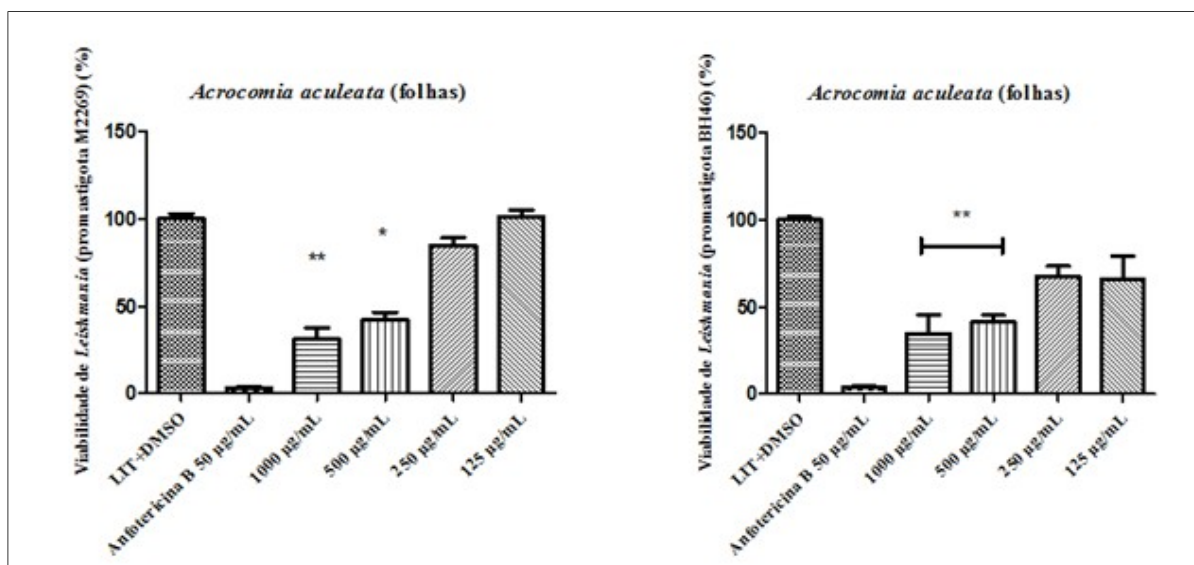
formas promastigotas de *L. chagasi*, com IC₅₀ de 46,16 µg/mL. Deste extrato foi isolado um composto, o lupeol, que não demonstrou toxicidade frente *A. salina* e, que se acredita ser o responsável por tal atividade. Contudo, deve-se considerar que as partes da espécie vegetal foram diferentes, assim como o solvente utilizado na confecção dos extratos e o modelo experimental para a avaliação da toxicidade, dificultando comparações entre os resultados. (MACHADO *et al.*, 2007). Este composto faz parte da classe dos triterpenos, que foi encontrada também na triagem fitoquímica preliminar do extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum* (Tabela 1 – Anexo B). Dessa forma, esta classe poderia ter contribuído para a atividade leishmanicida apresentada por este extrato.

Além de terpenóides, foram identificados flavonóides e alcalóides no extrato das folhas desta planta (Tabela 1 – Anexo B). Substâncias pertencentes a estas classes de metabólitos secundários e isoladas de espécies da mesma família botânica (Fabaceae) que *A. dasycarpum*, são descritas por apresentarem atividade leishmanicida (SALEM & WERBOVETZ, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2015; CALLEJON *et al.*, 2014; ALBUQUERQUE *et al.*, 2014). Exemplificando, o fracionamento do extrato proveniente das raízes de *Psorothamnus arborescens* levou ao isolamento de flavonóides (isoflavona e chalcona) que apresentaram atividade leishmanicida. Uma isoflavona e uma chalcona apresentaram IC₅₀ de 13,0 e 20,7 µM, respectivamente, contra formas amastigotas de *Leishmania donovani* (SALEM & WERBOVETZ, 2006). Flavonóides isolados da casca do caule de *Stryphnodendron obovatum* apresentaram atividade, com IC₅₀ variando de 1,7 µg/mL a 86,4 µg/mL contra *L. amazonensis* (RIBEIRO *et al.*, 2015). Quatro alcalóides (espirocíclicos) isolados de *Erythrina verna* apresentaram atividade contra *L. amazonensis* (CALLEJON *et al.*, 2014). Uma mistura de alcalóides (cassina/espectralina) obtida a partir de *Senna spectabilis* exibiu atividade significativa contra *Leishmania major*, apresentando valor de IC₅₀ de 24,9 µg/mL (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014). Diante do exposto, estas classes de metabólitos, também presentes no extrato de *A. dasycarpum*, podem ter contribuído para sua atividade leishmanicida, necessitando de maiores investigações sobre os prováveis metabólitos responsáveis por esta atividade.

O extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* foi ativo para ambas as cepas de *Leishmania* nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL. Para a cepa M2269 foi observada uma redução da viabilidade parasitária de 69,98% e 58,00%, respectivamente, e IC₅₀ de 387,5 µg/mL. A eficácia comparada à anfotericina B (96,94% de morte parasitária), foi de 71,16% e 59,83%, respectivamente, e o IS foi de 0,434. Contra a cepa BH46 o extrato levou a uma

redução da viabilidade parasitária de 65,18% e 58,61%, respectivamente, com IC₅₀ de 48,3 µg/mL e eficácia em relação à anfotericina B (percentual de morte parasitária de 95,96%), de 67,92% e 61,07%, respectivamente. O IS (0,483) também revelou baixa seletividade sobre as células parasitárias quando comparada aos fibroblastos (Figura 48; Tabela 11). A eficácia deste extrato na maior concentração ativa foi maior para a cepa M2269 do que para cepa BH46.

Figura 48: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de *Acrocomia aculeata*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*,



respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (*), (**) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

A atividade leishmanicida observada para o extrato de *A. aculeata* também pode ser observada para outras espécies de plantas de sua família botânica (Arecaceae). Como exemplo, Mendonça-Filho *et al.* (2004) verificaram que um extrato rico em polifenóis extraído de *Cocus nucifera* contra *L. amazonensi*, foi capaz de inibir completamente o crescimento de formas promastigotas com uma concentração inibitória mínima de 10 µg/mL. Macrófagos peritoniais de camundongos foram tratados com esta concentração do extrato rico em polifenóis e foi observada uma redução de aproximadamente 44% do índice de associação entre esses macrófagos e formas promastigotas de *L. amazonensis*. Extratos metanólico do caroço e do fruto de *Phoenix dactylifera* foram avaliados contra formas promastigotas de *L. major*, obtendo-se IC₅₀ de 23 µg/mL e 500 µg/mL, respectivamente (ALBAKHIT *et al.*, 2016). O extrato aquoso bruto rico em procianidinas obtido dos frutos de *Syagrus coronata*

apresentou atividade contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*, sendo registrada uma concentração inibitória mínima deste extrato sobre os parasitas de 8,3 µg/mL. Neste estudo foi possível observar também que o pré-tratamento dos macrófagos peritoneais de camundongos com 33 µg/mL deste extrato reduziu o índice de associação entre macrófagos e *L. amazonensis* em 70,4%, e aumentou em 158,3% a produção de óxido nítrico pelos macrófagos infectados. Além disso, o extrato aquoso não teve nenhum efeito citotóxico em células de mamífero e não provocou reações alérgicas *in vivo* (RODRIGUES *et al.*, 2011). Ao contrário, o extrato testado no presente estudo, que apesar da atividade observada apresentou-se bastante citotóxico sobre as células de mamíferos avaliadas, conforme mostrado pelos valores do IS. Contudo, deve ser considerado que a substância responsável pela citotoxicidade pode não ser a mesma responsável pela atividade leishmanicida. Assim, o fracionamento e isolamento de substâncias poderiam levar a resultados mais promissores, considerando que por se tratar de extrato bruto, os resultados de eficácia foram superiores a 60%, principalmente, para a cepa BH46.

Rodrigues *et al.* (2011) mostraram que um extrato rico em flavonóides, obtido de uma espécie da família Arecaceae, apresentou atividade leishmanicida. Esta classe de metabólito secundário também foi encontrada no extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* (Tabela 1 – Anexo B), o que poderia ter contribuído para a ação leishmanicida deste extrato.

Além de flavonóides, taninos e cumarinas também foram encontrados na triagem fitoquímica preliminar do extrato de *A. aculeata* (Tabela 1 – Anexo B) e também são relatados por apresentarem atividade leishmanicida (ACCIOLY *et al.*, 2012; NAPOLITANO *et al.*, 2004; FERREIRA *et al.*, 2010; KOLODZIEJ & KIDERLEN *et al.*, 2005). Como exemplo, auraptena e helietina (cumarinas) apresentaram atividade contra *L. major* e *L. amazonensis*, respectivamente (NAPOLITANO *et al.*, 2004; FERREIRA *et al.*, 2010). Segundo Accioly *et al.* (2012) o ácido tânico (tanino) apresentou boa atividade contra formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania chagasi*. Os elagitaninos e galotaninos foram ativos contra *Leishmania donovani* e *L. major* (KOLODZIEJ & KIDERLEN *et al.*, 2005).

O extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk. não exibiu atividade leishmanicida nas concentrações testadas para nenhuma das cepas de *Leishmania* utilizadas no presente estudo (Figura 49; Tabela 11).

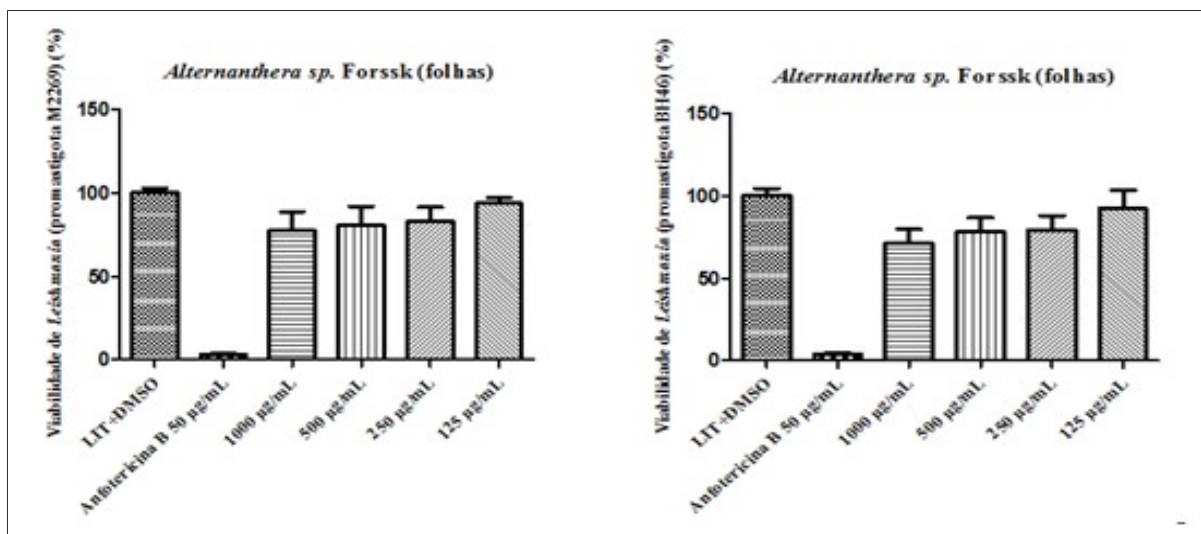


Figura 49: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO).

Os dados na literatura mostram que algumas espécies encontradas no gênero *Alternanthera*, apresentaram atividade leishmanicida, diferentemente do que foi apresentado pelo extrato da espécie aqui estudada. Entretanto, os dados não são homogêneos, o que pode estar associado a diferenças entre as plantas, nos modelos empregados para avaliação da atividade e/ou no metabolismo vegetal, que pode também estar relacionado a condições a que foram submetidas como o solo, o clima, a época de coleta, dentre outras. No estudo realizado por Garcia *et al.* (2012) foi avaliado o extrato hidroalcoólico das folhas de *A. sessilis* e também não foi observada atividade contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*. Por outro lado, o extrato de *Alternanthera tenella* foi capaz de reduzir a viabilidade de formas amastigotas de *L. amazonensis* (SALVADOR, 2005). Já o extrato alcoólico produzido com toda espécie de *Alternanthera philoxeroides* não se mostrou ativo contra a cepa Dd 8 de *Leishmania donovani* (GOEL *et al.*, 2002), como observado no presente estudo.

A triagem fitoquímica preliminar do extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk revelou a presença das seguintes classes de metabólitos secundários: terpenóides, flavonóides, taninos e saponinas (Tabela 1 – Anexo B). Todas estas classes são reportadas por apresentarem ação leishmanicida (ACCIOLY *et al.*, 2012; ARAÚJO *et al.*, 1998; BOECK *et al.*, 2006; KHANNA *et al.*, 2009; FUCHINO *et al.*, 2008; RAMÍREZ-MACÍAS *et al.*, 2012). Contudo, variações qualitativas e quantitativas na expressão destes metabólitos, bem como

particularidades estruturais destes, poderiam justificar a ausência da atividade para a planta estudada.

Não foi observada atividade leishmanicida para o extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* sobre a cepa BH46 de *L. infantum*. Contra a cepa M2269 de *L. amazonensis* este extrato foi ativo nas concentrações de 1000 e 500 $\mu\text{g/mL}$, levando a uma redução da viabilidade parasitária de 78,04% e 73,11%, respectivamente, e IC_{50} de 267,9 $\mu\text{g/mL}$. Este extrato apresentou-se como o segundo extrato mais eficaz frente a esta cepa, quando comparada com a anfotericina B (percentual de morte parasitária de 96,94%), levando a uma eficácia de 80,5% e 75,41%, respectivamente, e IS 0,641 (Figura 50; Tabela 11). Apesar de ter sido um extrato com boa eficácia contra esta cepa, seu IS mostra que o mesmo é pouco seletivo para os parasitas, o que poderia ser contornado por meio de estudos químicos mais aprofundados para determinar quais as substâncias responsáveis pela citotoxicidade e pela atividade.

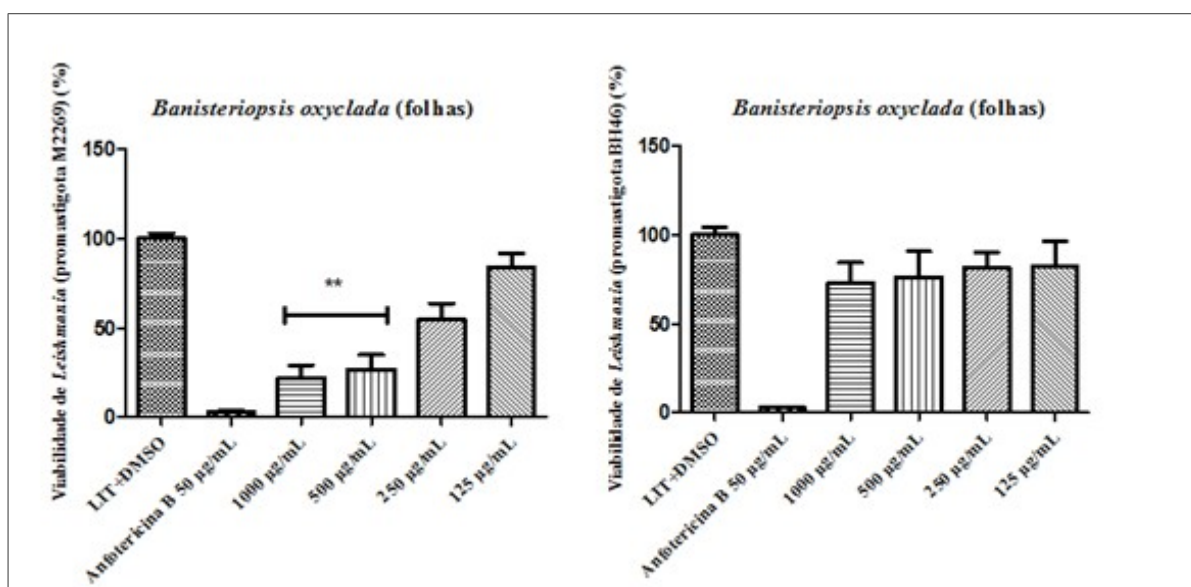


Figura 50: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de *Banisteriopsis oxyclada*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (**) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,01$, considerando intervalo de confiança de 95%.

Na literatura há estudos que demonstram que plantas da mesma família (Malpighiaceae) que a da espécie *B. oxyclada* também apresentaram atividade frente a espécies de *Leishmania*. Danelli *et al.* (2009) isolaram um triterpeno a partir de *Lophanthera lactescens*, que apresentou atividade leishmanicida contra formas amastigotas de *L. amazonensis* (IC_{50} de 0,41 $\mu\text{g/mL}$). Do extrato de acetato de etila de *Byrsonima coccolobifolia*

foram isolados o ácido gálico e alguns derivados que foram consideradas como substâncias promissoras na investigação de agentes leishmanicidas, suas IC_{50} variaram de 147,48 $\mu\text{g/mL}$ a 0,13 $\mu\text{g/mL}$ (SOUSA *et al.*, 2014). Em uma triagem realizada com dezoito plantas oriundas da Península Yucatán os extratos metanólico das folhas e casca de *Byrsonima crassifolia* e *Byrsonima bucidaefolia*, ficaram entre os extratos mais ativos contra as formas promastigotas de *Leishmania mexicana*. O extrato metanólico da casca de *B. crassifolia* apresentou uma IC_{50} de 14 $\mu\text{g/mL}$ e o extrato de suas folhas uma IC_{50} de 87 $\mu\text{g/mL}$. Já o extrato metanólico da casca e folhas de *B. bucidaefolia* apresentou IC_{50} de 36 $\mu\text{g/mL}$ e 60 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (PERAZA-SANCHÉZ *et al.*, 2007).

A triagem fitoquímica deste extrato revelou a presença de terpenóides e taninos (Tabela 1 – Anexo B), portanto, sua atividade leishmanicida pode estar relacionada com a presença destes compostos, uma vez que foram as classes de metabólitos responsáveis pela atividade leishmanicida das espécies *L. lactescens* e de *B. coccolobifolia*, respectivamente, pertencentes à mesma família botânica que *B. oxyclada* (DANELLI *et al.*, 2009; SOUSA *et al.*, 2014).

Flavonóides também foram encontrados na triagem fitoquímica deste extrato (Tabela 1 – Anexo B), podendo ter contribuído para sua ação leishmanicida, uma vez que há relatos de atividade leishmanicida de flavonóides isolados de espécies da família Malpighiaceae. Como exemplo, da espécie *Acridocarpus chloropterus* foram isolados os flavonóides apigenina, campferol e quercetina e os triterpens ácido ursólico, ácido oleanólico. Todos estes exibiram atividade contra *L. donovani*, com IC_{50} variando de 0,80 $\mu\text{g/mL}$ a 5,90 $\mu\text{g/mL}$ (MALEBO *et al.*, 2013).

O extrato etanólico das folhas de *C. adamantium* não apresentou atividade frente a cepa BH46, mas foi ativo contra a cepa M2269 na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$, sendo observada uma redução da viabilidade parasitária de 59,81%, com IC_{50} de 629,4 $\mu\text{g/mL}$. A eficácia em relação à anfotericina B (percentual de morte parasitária de 96,97%), foi de 61,68%. O IS (0,180) para este extrato foi extremamente baixo, revelando uma alta toxicidade contra células L929 (Figura 51; Tabela 11). Estes resultados podem limitar o uso deste extrato quanto a essa atividade, considerando que foi ativo somente na maior concentração testada, a redução da viabilidade não foi tão expressiva quanto de outros extratos testados, apresentando uma elevada IC_{50} e o IS muito baixo.

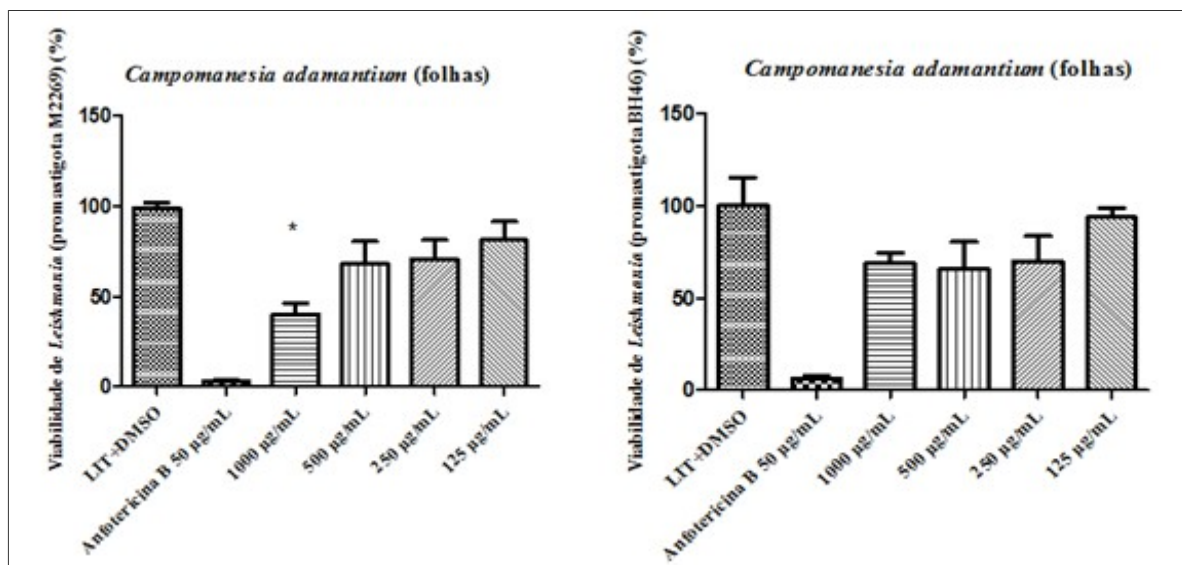


Figura 51: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de *Campomanesia adamantium*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (*) corresponde a diferença significativa com $p \leq 0,05$, considerando intervalo de confiança de 95%.

Na literatura são descritas algumas espécies da mesma família botânica (Myrtaceae) que tem apresentado resultados promissores para atividade leishmanicida, com menores IC_{50} e excelentes índices de seletividade, diferencialmente do observado no extrato da planta avaliada no presente estudo. O extrato metanólico e o óleo essencial de *Myrtus communis* apresentaram atividade leishmanicida frente as formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania tropica*. Para as formas promastigotas o óleo essencial teve uma IC_{50} de 8,4 $\mu\text{g/mL}$ e para formas amastigotas uma IC_{50} de 11,6 $\mu\text{g/mL}$ e com elevada seletividade contra as formas parasitárias (IS de 11,7). O extrato metanólico apresentou uma IC_{50} de 28,9 $\mu\text{g/mL}$ para as formas promastigotas e uma IC_{50} de 40,8 $\mu\text{g/mL}$ e IS de 14,2. A triagem fitoquímica deste extrato revelou presença de grande quantidade de terpenóides, flavonóides, taninos, fenóis e glicosídeos (MAHMOUDVAND *et al.*, 2015). *Blepharocalyx salicifolius* teve seu extrato bruto etanólico fracionado e dezesseis frações foram obtidas e submetidas a ensaio *in vitro* contra amastigotas de *Leishmania amazonensis*. Foi observado que oito frações exibiram atividade contra este parasito com IC_{50} variando de 19 a 29 $\mu\text{g/mL}$. Duas destas não foram citotóxicas para as células mononucleares do sangue periférico humano, o que as tornam uma fonte potencial para o isolamento de substâncias leishmanicidas mais seletivas (SIQUEIRA *et al.*, 2010). O óleo essencial extraído das folhas de *Syzygium cumini* foi avaliado frente as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, apresentando uma IC_{50} de 60 $\mu\text{g/mL}$.

Análises GC/MS revelaram uma grande quantidade de monoterpenos (87,12%) neste óleo essencial, sendo que os componentes majoritários foram α -pineno (31,85%), (Z) - β -ocimeno (28,98%), e (E) - β -ocimeno (11,71%) (DIAS *et al.*, 2013). Já a espécie *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) teve seu óleo essencial avaliado quanto à atividade leishmanicida contra as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Este teve uma atividade bastante promissora com 100% de morte dos parasitas nas concentrações de 400, 200 e 100 $\mu\text{g/mL}$ e uma IC_{50} de 1,75 $\mu\text{g/mL}$ (RODRIGUES *et al.*, 2012b).

Assim como nos trabalhos citados, também foram encontradas na triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *C. adamantium* a presença de terpenóides, flavonóides e taninos (Tabela 1 – Anexo B). Dessa forma, a atividade leishmanicida encontrada para este extrato pode estar correlacionada com tais classes de metabólitos. No entanto, esta não foi tão promissora quanto à das espécies citadas e uma possível explicação poderia ser pela baixa concentração destes metabólitos neste extrato e, por este ter apresentado saponinas, que não foram encontradas para os extratos das outras espécies e são relatadas por serem altamente tóxicas para células de mamíferos (PODOLAK *et al.*, 2010), por serem capazes de formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolipídeos de membranas, que podem alterar a sua permeabilidade, acarretando a sua destruição (SCHENKEL *et al.*, 2001). Tal fato pode ser comprovado pelo baixo IS (0,180) que este extrato apresentou.

Para a espécie *C. ovalifolia* o extrato etanólico das partes aéreas não foi ativo para a cepa BH46, contudo o extrato das suas raízes mostrou atividade nas concentrações de 1000 a 250 $\mu\text{g/mL}$ (redução da viabilidade parasitária variando de 71,87% a 61,42%), IC_{50} de 209,1 $\mu\text{g/mL}$, com eficácia comparada a da anfotericina B (percentual de morte parasitária de 93,45%), de 76,58% a 65,44% e IS de 0,446. Para a cepa M2269 ambos os extratos desta espécie foram ativos. O extrato etanólico da raiz demonstrou atividade na faixa de concentração de 1000 a 250 $\mu\text{g/mL}$ (redução da viabilidade parasitária variando de 70,57% a 62,97%), IC_{50} de 203,5 $\mu\text{g/mL}$, com eficácia comparada a da anfotericina B (percentual de morte parasitária de 96,94%), de 72,8% a 64,95%. Na avaliação do extrato das partes aéreas foi observada atividade somente na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$, que levou a uma redução da viabilidade da cepa M2269 de 51,92%, com IC_{50} de 68 $\mu\text{g/mL}$ e eficácia comparada a anfotericina B (percentual de morte parasitária de 96,94%) de 53,55%. O IS obtido comparando a atividade destes extratos contra as duas cepas também foi baixo (de 0,458 e 0,144, respectivamente) revelando uma elevada toxicidade associada (Figura 52; Tabela 11).

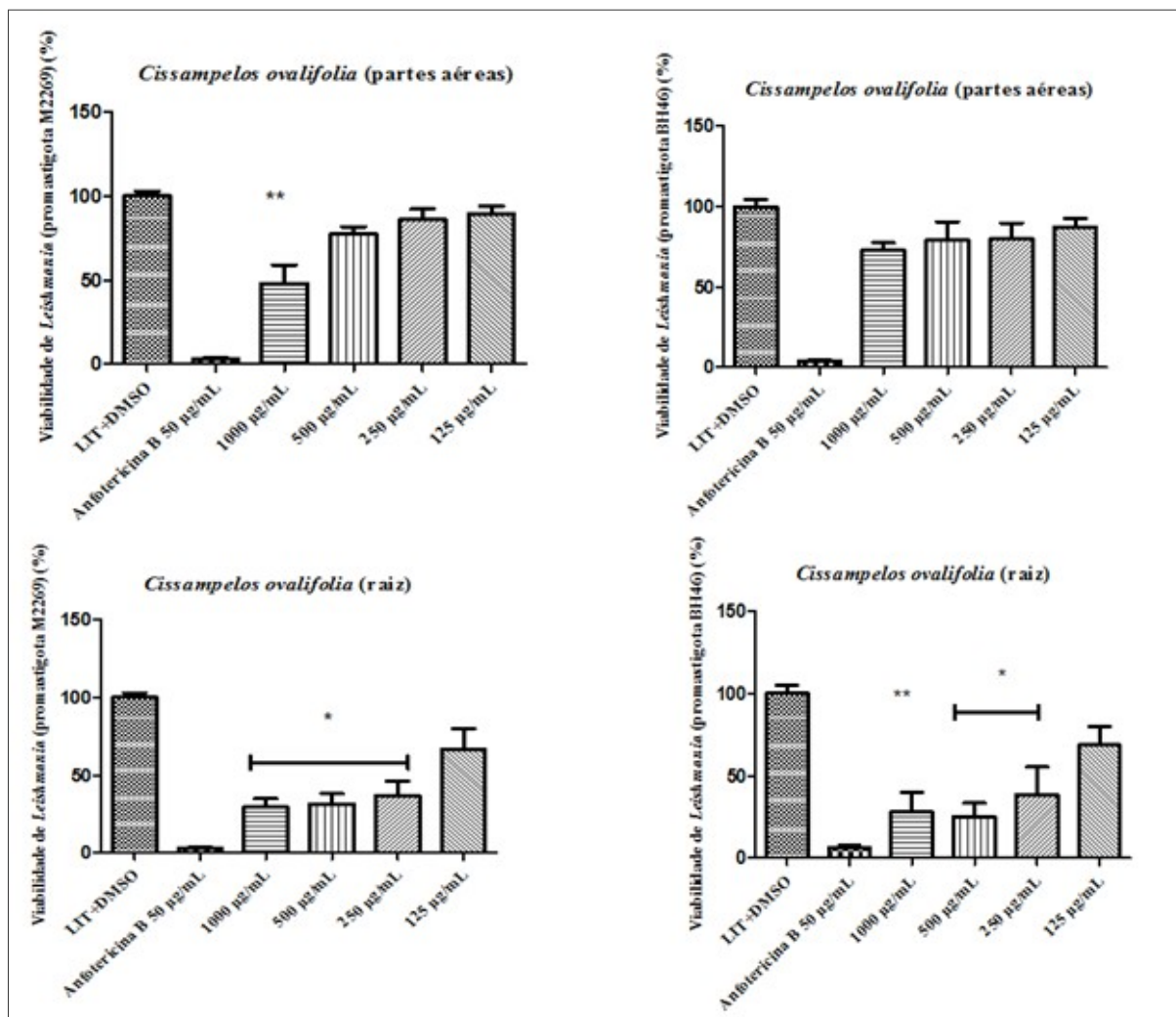


Figura 52: Avaliação da atividade leishmanicida dos extrato etanólicos das partes aéreas e da raiz de *Cissampelos ovalifolia*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (*) e (**) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

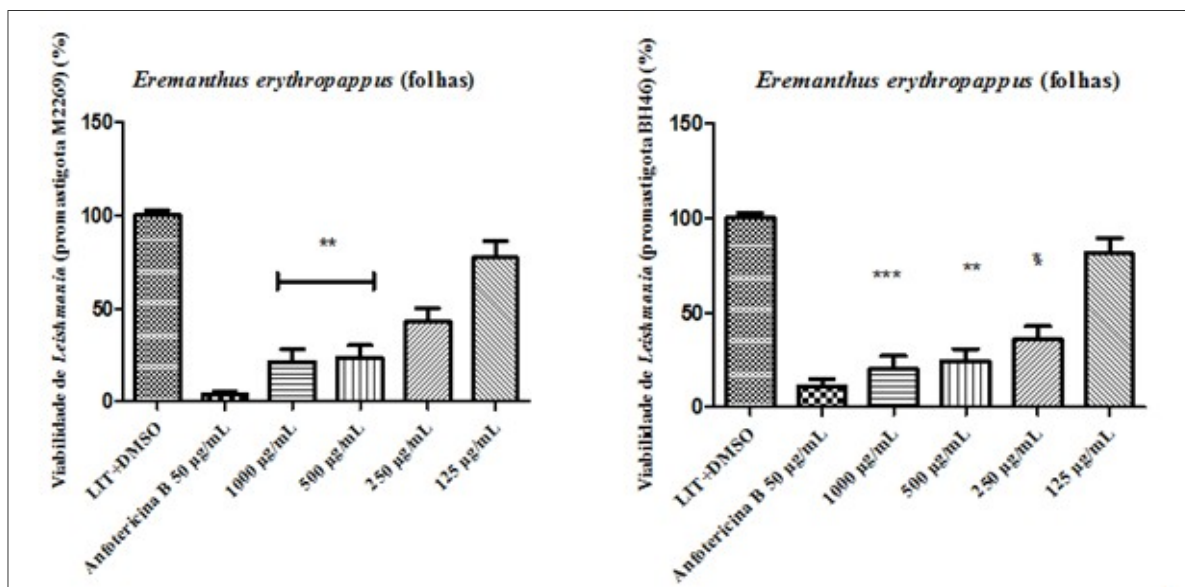
A triagem fitoquímica destes extratos revelou classes de metabólitos secundários, terpenóides flavonóides e taninos (Tabela 1 – Anexo B), que possuem ação leishmanicida descrita na literatura (RAMÍREZ-MACÍAS *et al.*, 2012; SULSEN *et al.*, 2013; ARAÚJO *et al.*, 1998; BOECK *et al.*, 2006; KOŁODZIEJ & KIDERLEN *et al.*, 2005; AYOCA *et al.*, 2006), podendo ser as responsáveis pela atividade observada. Contudo, como somente no extrato da raiz de *C. ovalifolia* foi observada a presença alcalóides e a melhor eficácia apresentada frente as duas cepas de *Leishmania* foi observada para este extrato, é provável que compostos pertencentes a esta classe sejam os responsáveis pela atividade observada. O fato dos alcalóides possuírem ação leishmanicida é bem caracterizado nesta e em outras

espécies do gênero (TEMPONE *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2012). Tempone *et al.* (2005) mostraram que o extrato de alcalóides isoquinolínicos de *C. ovalifolia* foi ativo contra formas promastigotas de *Leishmania chagasi* (IC₅₀ de 63,88 µg/mL), reduzindo em 89,8% a infecção de macrófagos infectados com este parasito na concentração de 25 µg/mL. A partir da espécie *Cisampelos sympodialis* foi isolado um alcalóide, a warifteína, que foi testado contra *Leishmania chagasi* e este se apresentou como um candidato bastante promissor para novas drogas com ação leishmanicida, uma vez que apresentou uma IC₅₀ de 0,08 µg/mL e induziu mudanças significativas na morfologia do parasita (SILVA *et al.*, 2012).

Outras espécies pertencentes à família Menispermaceae, como *Stephania dinklagei*, *Caryomene olivasans* e *Albertisia papuana*, forneceram alcalóides com ação leishmanicida promissora (CAMACHO *et al.*, 2000; MISHRA *et al.*, 2011).

O extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus* apresentou atividade leishmanicida sobre as duas cepas de *Leishmania*. As concentrações ativas para a cepa M2269 foi de 1000 e 500 µg/mL (redução da viabilidade parasitária de 78,52% e 76,41%, respectivamente) e IC₅₀ de 226,4 µg/mL. Este apresentou eficácia de 81,78% e 79,59%, respectivamente, apresentando-se como o extrato mais eficaz, quando comparado a anfotericina B (percentual de morte parasitária de 96,01%), e IS de 0,224. Para a cepa BH46 a faixa de concentração que teve atividade foi de 1000 a 250 µg/mL (redução da viabilidade parasitária variando de 79,71% a 70,75%), IC₅₀ de 198,3 µg/mL, com eficácia comparada a anfotericina B (percentual de morte parasitária de 89,13%), de 89,43% a 79,38%, sendo o segundo extrato mais eficaz dos que foram avaliados e, apresentando IS de 0,255 (Figura 53; Tabela 11). Apesar de ter boa eficácia para ambas as cepas, os extratos foram pouco seletivos para os parasitos, sendo o fracionamento e isolamento da (s) substância(s) com ação leishmanicida, uma boa alternativa para tentar aumentar sua seletividade frente às cepas de *Leishmania*.

Figura 53: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de *Eremanthus erythropappus*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (*), (**) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.



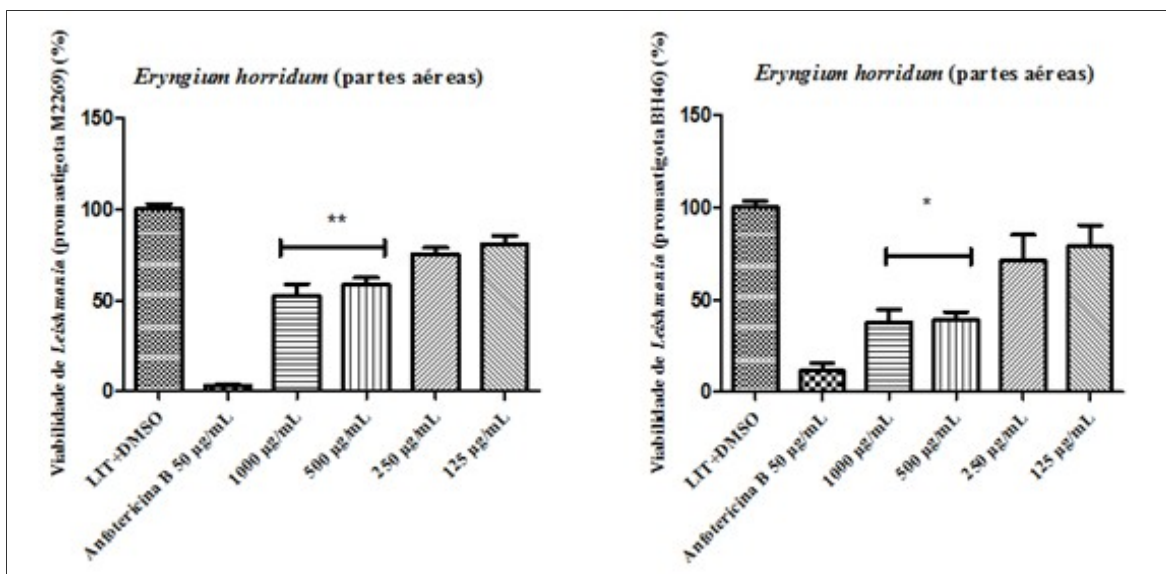
A avaliação da atividade leishmanicida ainda não havia sido realizada com esta espécie, mas espécies de sua família, Asteraceae, já foram investigadas quanto a esta atividade biológica. A partir da espécie *Anthemis auriculata* foram isoladas três lactonas sesquiterpênicas (anthecotulideo (1), 4-hydroxyanthecotulideo (2) e 4-acetoxanthecotulideo) e estas exibiram potente atividade leishmanicida frente as formas amastigotas axênicas da cepa MHOM/ET/67/L82 de *L. donovani*, com IC_{50} de 8,18 µg/mL, 3,27 µg/mL e 12,5 µg/mL, respectivamente (KARIOTI *et al.*, 2009). Em um outro estudo foi verificada a atividade leishmanicida do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* e de seu principal composto, α -bisabolol (classe dos terpenóides), contra as formas promastigotas da cepa MHOM/BR/76/MA-76 de *L. amazonensis*, com IC_{50} 7,35 e 4,95 µg/mL, respectivamente. Contra as formas amastigotas intracelulares apresentaram IC_{50} de 12,58 e 10,70 µg/mL, respectivamente, não sendo tóxicos para macrófagos, valores de IS de 11,5 e 9,4, respectivamente (COLARES *et al.*, 2013). Segundo Toledo *et al.* (2014) um extrato rico em lactonas sesquiterpênicas obtido a partir das folhas de *Tithonia diversifolia* teve ação leishmanicida potente quando testado frente as formas promastigotas de *L. braziliensis* (DL_{50} de $1,5 \pm 0,50$ µg/mL). Deste extrato foram isoladas oito lactonas sesquiterpênicas que foram investigadas contra formas promastigotas e amastigotas de *L. braziliensis*. Para as formas promastigotas somente uma não foi ativa e as outras sete exibiram atividade leishmanicida com DL_{50} que variou de 2,2 µg/mL a 13,7 µg/mL. Já para as formas amastigotas somente duas lactonas sesquiterpênicas foram ativas, com DL_{50} de 4,50 e 24,9 µg/mL. O flavonóide, 5-desmethilsinensetina, isolado a partir do extrato de *Stevia satereiifolia*, apresentou atividade

contra *L. braziliensis* (IC₅₀ de 37,0 µg/mL), sem citotoxicidade em células Vero a uma concentração de 500 µg/mL (BEER *et al.*, 2016). Outros seis flavonóides isolados da casca de *Chromolaena hirsuta* mostrou efeito anti-proliferativo significativo no desenvolvimento de *L. amazonensis* (TALEB-CONTINI *et al.*, 2004). A partir da fase diclorometânica do extrato metanólico de folhas de *Baccharis retusa* foi obtido dois flavonóides: naringenina e sakuranetina. Estes compostos foram testados *in vitro* contra *Leishmania* spp. e a última substância apresentou atividade contra *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. major* e *Leishmania chagasi* com valores de IC₅₀ na faixa entre 43 a 52 µg/mL (GRECCO *et al.*, 2012).

Considerando que a triagem fitoquímica do extrato de *E. erythropappus* relevou a presença da classe dos terpenóides e flavonóides e, que essas classes foram descritas nos estudos citados acima, como as responsáveis pela atividade leishmanicida em outras espécies da família Asteraceae, a atividade leishmanicida frente as cepas M2269 e BH46 observada para o extrato de folhas de *E. erythropappus* pode estar associada também a presença desses metabólitos secundários, que tem sido comumente descritos em plantas da família Asteraceae.

O extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum* foi ativo tanto para a cepa M2269 quanto para a cepa BH46 de *Leishmania*. A faixa de concentração ativa para a cepa M2269 foi de 1000 e 500 µg/mL (redução da viabilidade parasitária de 59,61% e 41,55%, respectivamente), IC₅₀ de 467,8 µg/mL, com eficácia comparada a anfotericina B (percentual de morte parasitária de 96,94%), de 61,49% e 42,86%, respectivamente, e IS de 0,502. Em relação à cepa BH46 a faixa de concentração ativa também foi de 1000 e 500 µg/mL, sendo observada uma redução da viabilidade dos parasitos de 62,17% e 60,82%, respectivamente, IC₅₀ de 249,8 µg/mL, com eficácia de 70,06% e 68,55%, respectivamente, em relação à anfotericina B (percentual de morte parasitária de 88,73%) e, apresentando um IS (0,940) inferior a 1 (Figura 54; Tabela 11). No entanto, a redução da viabilidade parasitária em relação ao fármaco padrão foi significativa, mostrando que o mesmo apresenta-se como fonte de promissora de compostos com ação leishmanicida, sendo necessários estudos mais aprofundados, com intuito de evidenciar se a mesma substância responsável pela atividade é a mesma responsável pela toxicidade observada e também a potência desta substância em relação a essa atividade.

Figura 54: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das partes aéreas de *Eryngium horridum*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (*) e (**) correspondem a diferenças significativas com p ≤ 0,05 e p ≤ 0,01, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.



Algumas espécies do gênero *Eryngium* apresentaram atividade leishmanicida quando avaliadas. A partir do extrato das partes aéreas de *Eryngium foetidum* foi isolados o lasidiol p-metoxibenzoato de metilo (sesquiterpeno daucano) que inibiu *L. donovani* e *Leishmania tarentolae* com valores de IC₅₀ de 14,33 µM e 7,84 µM, respectivamente, e não mostraram

citotoxicidade (IC₅₀ > 50 µM) (ROJAS-SILVA *et al.*, 2014). Em outro estudo este mesmo

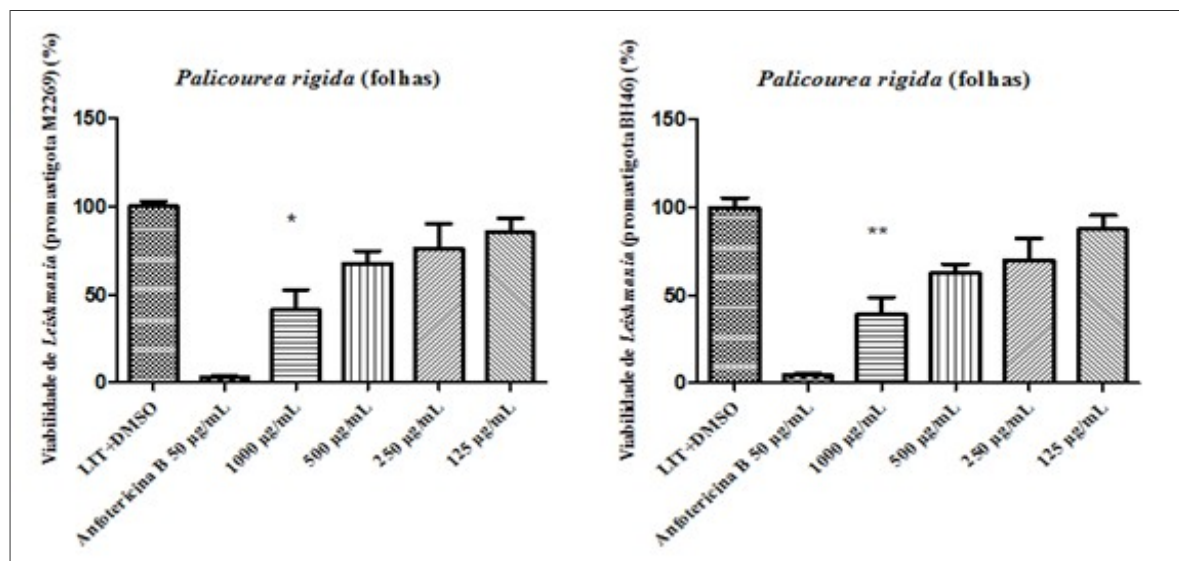
composto também isolado de *E. foetidum* demonstrou atividade leishmanicida com IC₅₀ de 5,34 µg/mL sem nenhuma citotoxicidade em células L6 (IC₅₀ > 20 µg/mL) (ROJAS-SILVA *et al.*, 2012). O extrato metanólico de *Eryngium thorifolium* teve uma atividade potente contra as formas promastigotas de *Leishmania tropica* com 100% de inibição a 25 µg/mL. Os extratos aquoso e metanólico de *E. thorifolium* também reduziram a parasitemia de camundongos infectados com *L. tropica* na dose de 100 mg/kg, sendo assim um candidato promissor para o tratamento da infecção por *L. tropica* (OZBILGIN *et al.*, 2014). Já o extrato metanólico de *Eryngium amorginum* exibiu atividade leishmanicida contra formas promastigotas de *L. donovani* (IC₅₀ < 10 µg/mL) (FOKIALAKIS *et al.*, 2007).

Na triagem fitoquímica do extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum* foi detectada a presença de terpenóides, saponinas e taninos (Tabela 1 – Anexo B). Rojas-Silva *et al.* (2012, 2014) demonstraram a presença de terpenóides obtidos do extrato metanólico das partes aéreas de *Eryngium foetidum* que apresentou atividade leishmanicida, podendo assim ser a classe responsável pela atividade leishmanicida observada para a espécie *E. horridum*.

Não foram encontrados estudos que detectaram ou relacionaram saponinas e taninos presentes em plantas deste gênero com tal atividade. Contudo para outras plantas eles têm sido relatados por apresentarem atividade leishmanicida, podendo também contribuir para a atividade observada (KHANNA *et al.*, 2009; FUCHINO *et al.*, 2008; SHUAIBU *et al.*, 2008). A saponina dasyscyfina C isolada das folhas de *Eclipta prostrata* apresentou atividade leishmanicida significativa contra promastigotas de *L. major* (KHANNA *et al.*, 2009). Uma saponina esteroidal com esqueleto furostano isolada das folhas de *Brunfelsia grandiflora*, apresentou atividade leishmanicida *in vitro* contra *L. major* (FUCHINO *et al.*, 2008). Segundo Shuaibu *et al.* (2008), a castalagina (tanino) apresentou atividade frente a diferente espécies de *Leishmania*.

O extrato etanólico das folhas de *P. rigida* foi ativo somente na concentração de 1000 µg/mL para ambas as cepas de *Leishmania*. Para a cepa M2269 resultou em redução da viabilidade parasitária de 58,67%, com IC₅₀ de 585,1 µg/mL, eficácia de 60,53%, comparada a anfotericina B (percentual de morte parasitária de 96,94%) e IS de 0,611. Em relação à cepa BH46 a redução da viabilidade parasitária foi de 65,86%, IC₅₀ de 641,1 µg/mL, com eficácia comparada a anfotericina B (percentual de morte parasitária de 95,54%) de 72,28% e IS de 0,557 (Figura 55; Tabela 11). Este extrato foi o que apresentou maior IC₅₀ para a cepa BH46 dos que foram avaliados. Já para a cepa M2269 este ficou como terceiro com a maior IC₅₀. Contudo, apesar do extrato ter apresentado uma eficácia superior a 60% isso foi observado apenas na maior concentração testada. Consequentemente, as substâncias responsáveis por tal atividade podem estar presentes em baixas concentrações ou até mesmo estar interagindo com outras no extrato, o que pode dificultar estudos posteriores para obtenção de frações mais ativas.

Figura 55: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de *Palicourea rigida*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (*) e (**) correspondem as diferenças significativas com $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.



P. rigida é uma espécie pertencente à família Rubiaceae. Assim, como esta espécie, outras desta família também apresentaram atividade leishmanicida. O extrato acetato de etila e metanólico de *Ixora coccinea* foram capazes de inibir significativamente as formas promastigotas de *L. donovani* (cepa AG 83), com IC₅₀ de 7,89 e 7,33 µg/mL, respectivamente (NASKAR *et al.*, 2013). O óleo essencial extraído das partes aéreas de *Mitracarpus frigidus* exibiu uma boa atividade contra as formas promastigotas de *L. major* e *L. amazonensis* com valores de IC₅₀ de 47,2 e 89,7 µg/mL, respectivamente (FABRI *et al.*, 2012). Cinco alcalóides (corynantheidina, corynantheina, dihydrocorynantheina, alfa-ioimbina e corinantina) isolados da casca de *Corynanthe pachyceras* mostraram atividade significativa contra promastigotas de *Leishmania major* (IC₅₀ no nível micromolar) (STAERK *et al.*, 2000). Alcalóides (isopteropodina, palmirina, rumberina e mitrajavina) isolados de *Hamelia patens* (Rubiaceae) foram ativos contra *Leishmania mexicana*, sendo a Palmirina, o que apresentou a maior atividade com IC₅₀ de 56 µM (SUÁREZ *et al.*, 2008).

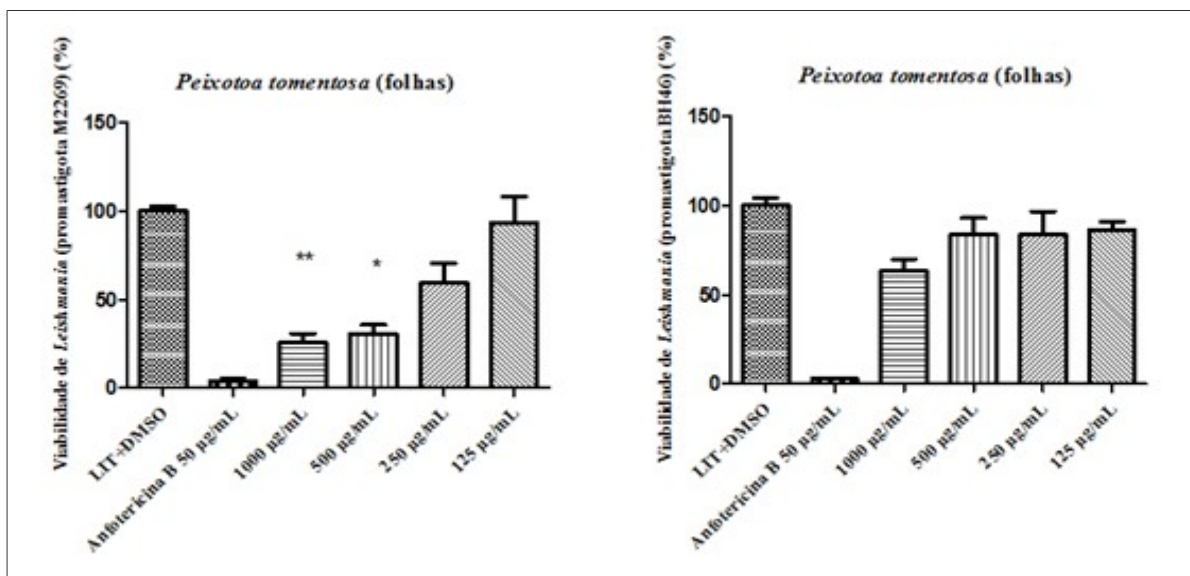
Assim como todas as espécies citadas tiveram suas atividades leishmanicida atribuídas a presença de alcalóides, sugere-se que esta classe de metabólito pode ter sido a responsável pela atividade leishmanicida de *P. rigida*, visto que em sua triagem fitoquímica esta classe foi também encontrada (Tabela 1 – Anexo B). Além desta classe de metabólitos foram encontradas terpenóides, taninos, saponinas e cumarinas neste extrato (Tabela 1 – Anexo B), que também apresentam ação leishmanicida e, portanto, poderiam ter contribuído para a atividade observada. Como exemplo, a aurapteno (cumarina) isolada da raiz de *Spiranthera odoratissima* (QUEIROZ *et al.*, 2008); cumarina isolada das folhas de *Calophyllum*

brasiliense (BRENZAN *et al.*, 2007); triterpenos (terpenóides) isolados de *Euphorbia resinifera* e *Euphorbia officinarum* (MAZOIR *et al.*, 2011); saponina (dasyscyfina) isolada das folhas de *Eclipta prostata* (KHANNA *et al.*, 2009) e tanino (castalagina) isolado da casca do caule de *Anogeissus leiocarpus* (SHUAIBU *et al.*, 2008) apresentaram atividade leishmanicida.

O extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa* foi ativo somente para a cepa M2269 nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL com redução da viabilidade parasitária de 74,57% e 69,37%, respectivamente. A IC₅₀ foi de 249,6%, com eficácia comparada a anfotericina B (percentual de morte parasitária de 97,19%) de 77,67% e 72,25%, respectivamente, e IS de 1,475 (Figura 56; Tabela 11). Este extrato apresentou bastante promissor contra a cepa M2269 exibindo uma boa eficácia, além de ter sido o mais seletivo para esta cepa (IS de 1,475), o que indica que estudos mais aprofundados com esta espécie podem oferecer substâncias com ação leishmanicida promissoras.

Espécies vegetais pertencentes à família botânica de *P. tomentosa* (Malpighiaceae) também demonstram ser fontes potenciais para a descoberta de novos agentes leishmanicidas. Por exemplo, o extrato metanólico de *Acridocarpus socotranus* apresentou relevante atividade contra *L. infantum* (IC₅₀ de 32,5 ± 6,2 µg/mL) (MOTHANA *et al.*, 2012). Em um estudo realizado por Peraza-Sánchez *et al.* (2007), os extratos metanólico da casca e das folhas de *Byrsonima bucidaefolia* e *Byrsonima crassifolia* apresentaram atividade frente as formas promastigotas de *Leishmania mexicana*, com valores de IC₅₀ de 36 µg/mL, 60 µg/mL, 14 µg/mL e 87 µg/mL, respectivamente. Um triterpeno, LLD-3, isolado a partir de *Lophanthera lactescens*, foi ativo contra formas amastigotas intramacrofágicos (IC₅₀ de 0,41 µg/mL) de *L. amazonensis*, revelando ser um potencial candidato a fármaco para o tratamento da leishmaniose (DANELLI *et al.*, 2009). Quercetina, um flavonóide isolado de *Glaphimnia glauca*, exibiu atividade contra *L. donovani* com IC₅₀ de 63,8 µM (CAMACHO *et al.*, 2002).

Figura 56: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas *Peixotoa tomentosa*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (*) e (**) correspondem a diferenças significativas com p ≤ 0,05 e p ≤ 0,01, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.

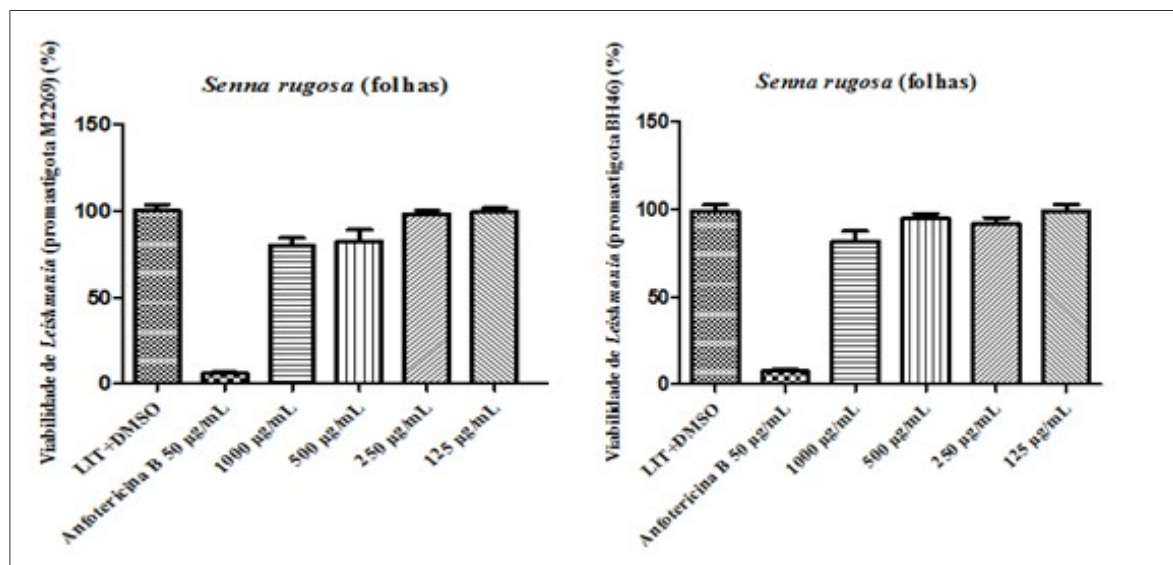


Nesse contexto, a atividade leishmanicida do extrato de *P. tomentosa* pode ser atribuída à presença de terpenóides e flavonóides, pois foram metabólitos encontrados na triagem fitoquímica deste extrato (Tabela 1 – Anexo B) e também foram os responsáveis pela atividade leishmanicida das espécies *L. lactescens* e *G. glauca*, que são membros de sua família botânica.

O extrato oriundo das folhas de *S. rugosa* não exibiu atividade leishmanicida, nas concentrações avaliadas, para nenhuma das cepas de *Leishmania* (cepa M2269 e BH46) (Figura 57; Tabela 11).

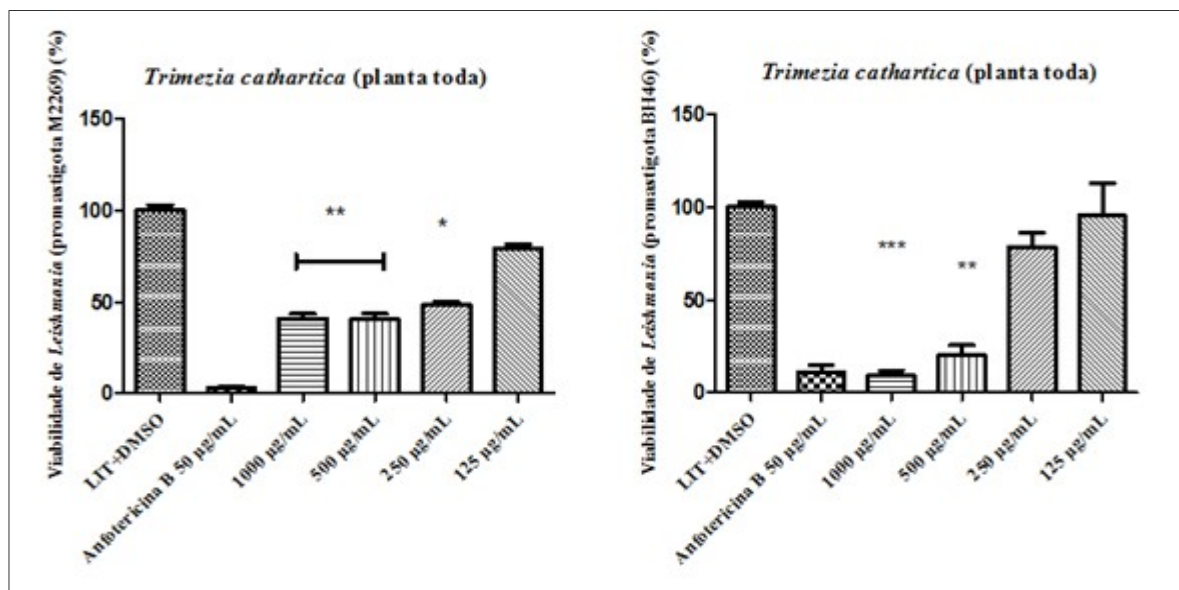
A espécie *S. rugosa* não possui estudos de avaliação da atividade leishmanicida, no entanto o extrato bruto etanólico, frações e dois alcalóides de *Senna spectabilis* foram avaliados contra as formas promastigotas de *Leishmania major*. As frações diclorometânica, n-butanólica e uma mistura de alcalóides (cassina/espectralina) exibiram uma atividade

Figura 57: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de *Senna rugosa*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO).



De toda a espécie *T. cathartica* foi produzido o extrato etanólico que foi ativo para ambas as cepas de *Leishmania*. Para a cepa M2269 este extrato foi ativo na faixa de concentração de 1000 a 250 µg/mL, com redução da viabilidade parasitária de 58,93% a 51,85%, IC₅₀ de 203,5 µg/mL, com eficácia comparada a anfotericina B (percentual de morte parasitária de 96,94%) variando 60,79% a 53,49% e IS de 0,824. Contra a cepa BH46 as concentrações ativas foram de 1000 e 500 µg/mL, levando a uma redução da viabilidade parasitária de 90,62% e 79,81%, respectivamente, e IC₅₀ de 366,1 µg/mL. Este apresentou eficácia comparada a anfotericina B (percentual de morte parasitária de 89,13%) de 101,68% e 89,54%, respectivamente, e IS de 0,458 (Figura 58; Tabela 11). Dos extratos avaliados este extrato foi mais eficaz quando comparado com a anfotericina B, para a cepa BH46 na concentração de 1000 µg/mL, sendo também o segundo extrato mais seletivo para a cepa M2269. Estes dados mostram que este extrato poderia fornecer substâncias com atividade leishmanicida, sendo o fracionamento uma boa ferramenta na detecção de tais substâncias que poderiam não ser as mesmas responsáveis pela toxicidade observada, dada a natureza complexa do extrato.

Figura 58: Avaliação da atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de *Trimezia cathartica*, sobre as formas promastigotas da cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e da cepa BH46 de *Leishmania infantum*, respectivamente. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte (LIT + DMSO). (*), (**) e (***) correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.



Não existem estudos de avaliação da atividade leishmanicida de *T. cathartica*. Contudo, o extrato de *Crocus sativus*, uma espécie também membro da sua família (Iridaceae), apresentou atividade contra promastigotas e amastigotas de *Leishmania major* (cepa MRHO/IR/75/ER). A IC₅₀ e de ED₅₀ deste extrato após 48 horas de incubação foi de 0,7 µg/mL e 0,5 µg/mL, respectivamente (YOUSEFI *et al.*, 2014). Extrato metanólico das raízes de *Iris germanica* exibiu atividade contra *L. infantum*, com valores de IC₅₀ de 32,2 µM/mL, apresentando IS > 2 (AL-MUSAYEIB *et al.*, 2012a).

Além disso, a triagem fitoquímica deste extrato revelou a presença de flavonóides (Tabela 1 – Anexo B), classe de metabólito secundário que tem sido descrita por apresentar relevante atividade leishmanicida contra várias espécies de *Leishmania* (BEER *et al.*, 2016; BOECK *et al.*, 2006; CRUZ *et al.*, 2013), o que poderia justificar os resultados para a espécie *T. cathartica*. Contudo, os resultados podem ser variáveis dependendo da espécie estudada, necessitando de comprovação por meio da caracterização do perfil químico.

5.2.5 Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos

Os estudos de avaliação da atividade antibacteriana de produtos naturais não possuem um consenso quanto à concordância da concentração que pode ser considerada com potencial

efeito, quando comparada com antibióticos convencionais (DUARTE, 2006). Tal fato está evidenciado em diversos estudos de avaliação da atividade antibacteriana destes produtos, especialmente de extratos, que mostram variações consideráveis nas faixas adotadas. Por exemplo, Santurio *et al.* (2007) consideram que aqueles que apresentaram uma CIM de 200 µg/mL eram detentores de uma forte atividade antibacteriana; CIM entre 201 a 510 µg/mL de uma atividade moderada e uma CIM maior ou igual a 1600 µg/mL de uma fraca atividade. Outro estudo considera como detentores de uma boa atividade aqueles com uma CIM < 100 µg/mL; com uma moderada atividade CIM entre 101 a 250 µg/mL e com uma fraca atividade CIM entre 201 e 500 µg/mL (ARAÚJO *et al.*, 2010). Para Duarte *et al.* (2005) produtos com uma CIM até 500 µg/mL seriam considerados como detentores de uma forte atividade; CIM entre 500 a 1000 µg/mL, uma moderada atividade; e aqueles com uma CIM \geq a 1000 µg/mL como uma fraca atividade. De acordo com Holetz *et al.* (2002) uma CIM < 100 µg/mL, corresponderia a uma forte atividade associada ao produto; entre 100 e 250 µg/mL uma moderada atividade; de 500 a 1000 µg/mL uma fraca atividade; e > 1000 µg/mL sem atividade antibacteriana Segundo Mither *et al.* (1972), dificilmente uma substância pura que não apresente atividade até 10 µg/mL seria um bom candidato a uso clínico Contudo, a aplicação desta observação aos extratos pode ser complicada, devido ao fato de o extrato ser geralmente uma mistura complexa de substâncias, sendo que muitas podem estar presentes em baixas concentrações ou agirem sinergicamente, ou mesmo antagonicamente. Dessa forma, considerando esse aspecto e as discrepâncias destes dados, no presente estudo, como objetivo de triagem daqueles extratos com potencial atividade antimicrobiana, os extratos foram avaliados na faixa de 125 µg/mL a 1000 µg/mL e foram adotados valores intermediários para a classificação da atividade dos extratos: aqueles que apresentaram CIM igual ou menor que 250 µg/mL foram considerados como detentores de uma forte atividade antibacteriana, CIM entre 250 e 750 µg/mL com atividade moderada; de 750 a 1000 µg/mL com fraca atividade e; CIM > 1000 µg/mL sem atividade antibacteriana.

Na tabela 2 (Anexo B) estão descritos os resultados da avaliação da atividade antibacteriana e bactericida/bacteriostática dos extratos que foi testada contra as seguintes espécies de bactérias: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus mirabilis* (ATCC 25931), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 29313). De todos os extratos avaliados somente três apresentaram atividade antibacteriana. Destes o extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* apresentou fraca atividade contra *P. aeruginosa*, com ação bactericida; o extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa* apresentou fraca atividade contra *S.*

aureus e forte para *P. aeruginosa*, ambas com ação bactericida; e o extrato etanólico das folhas de *S. rugosa* apresentou moderada atividade com ação bacteriostática frente a *P. aeruginosa* (Tabela 2 – Anexo B).

A figura 59 representa os resultados obtidos para a avaliação da atividade antibacteriana frente a *P. aeruginosa* dos extratos das espécies *P. tomentosa* (colunas 1, 2 e 3) *P. rigida* (colunas 7, 8 e 9) e *E. horridum* (colunas 10, 11 e 12).

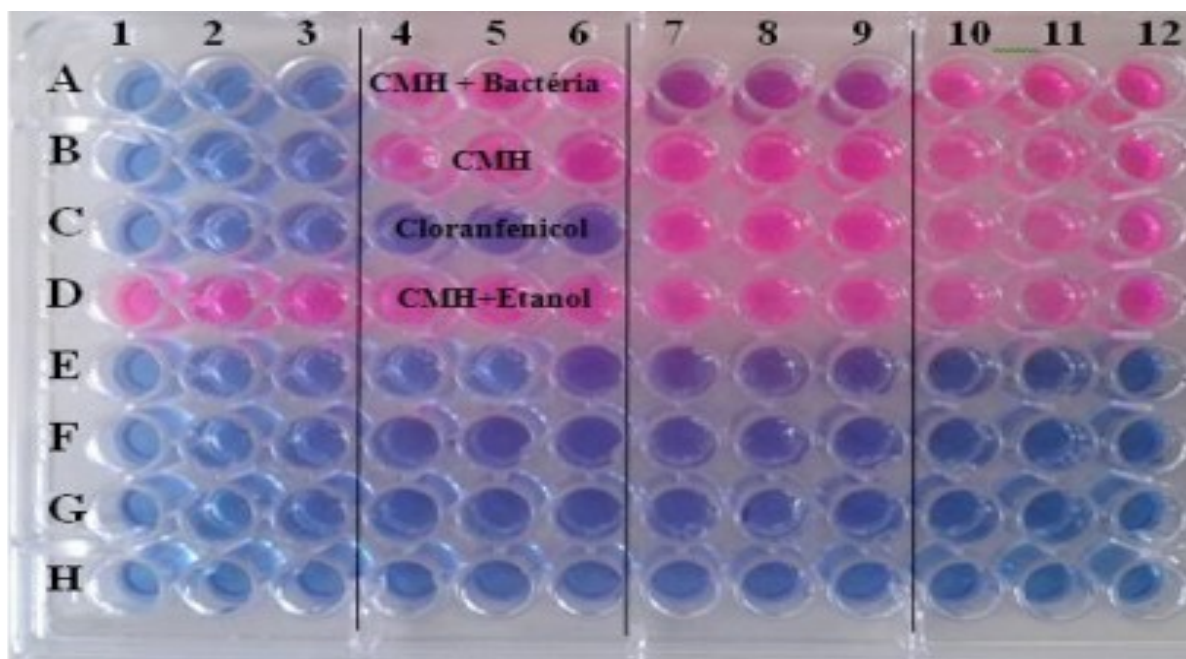


Figura 59: Avaliação da atividade antibacteriana sobre *Pseudomonas aeruginosa* utilizando a técnica de diluição em microplaca com determinação da CIM. Linhas A e E – concentração de 1000 µg/mL do extrato; linhas B e F - concentração de 500µg/mL do extrato; linhas C e G – concentração de 250 ug/mL do extrato; e linhas D e H - concentração de 125 ug/mL do extrato. Linhas A, B, C e D: poços testes, contendo extrato etanólico de *Peixotoa tomentosa* + *Pseudomonas aeruginosa*. Linhas E, F, G e H: controle do meio (Extrato etanólico + Caldo Muller Hinton sem bactéria). Colunas 7,8,9: extrato etanólico das folhas de *Palicourea rigida*; colunas 10, 11, 12: extrato etanólico das partes aéreas de *Eryngium horridum*.

O extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum* não apresentou atividade frente às espécies de bactérias avaliadas (Tabela 2 – Anexo B). Contudo, segundo Trevisan (2002) o extrato bruto metanólico das cascas das raízes de *A. dasycarpum* foi ativo contra *Staphylococcus epidermidis* na concentração de 50 µg/mL. Apesar de se tratar da mesma espécie, a parte da planta utilizada foi diferente da aqui utilizada, que pode conferir ao extrato composição química distinta, o que poderia justificar as diferenças nos resultados observados. A composição química do extrato e o fato de utilizar espécies bacterianas distintas, também dificultam a comparação entre os resultados destes estudos. Na medicina popular esta espécie tem as cascas de suas raízes utilizadas no tratamento de afecções cutâneas, além da ação

diurética atribuída às suas folhas (RODRIGUES, 1996 apud SOUSA-JUNIOR *et al.*, 2009). Dessa forma, a substância com ação antibacteriana pode estar presente nesta parte do vegetal e não nas folhas, explicando a ausência de compostos com atividade antibacteriana, ou se presentes, podem estar em baixas concentrações. Sua triagem fitoquímica revelou a presença de flavonóides, taninos e cumarinas (Tabela 1 – Anexo B), que estão associados à atividade antibacteriana em espécies da sua família (PRASAD *et al.*, 2004b; GIRARDI *et al.*, 2014). Desse modo, estes metabólitos podem estar em baixas concentrações, dificultando sua ação antibacteriana, ou ainda, podem apresentar substituintes ou outras particularidades estruturais que diminuem ou anulam a atividade conferida a outras moléculas da mesma classe de metabólito.

O extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* não apresentou atividade para nenhuma das espécies de bactérias avaliadas neste estudo (Tabela 2 – Anexo B). Esta espécie ainda não foi investigada quanto a sua atividade antibacteriana, porém, diferentemente para o observado para esta parte da planta, membros de sua família botânica (Arecaceae) tem registros de atividade antibacteriana na literatura. Por exemplo, o extrato metanólico de *Phoenix sylvestris* apresentou atividade antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. Este extrato ao ser fracionado produziu uma fração (MPF8) que foi ativa contra *Micrococcus leuteus* (CIM de 1 mg/mL) e *E. coli* (CIM de 2 mg/mL). Tanto o extrato metanólico como a fração MPF8 apresentaram em sua constituição química flavonóides, taninos, saponinas, alcalóides e fenóis (SHARMA *et al.*, 2016). Já o extrato hidroalcoólico de *Areca catechu* na concentração de 200 mg/mL apresentou atividade antibacteriana contra as espécies *E. coli*, *S. aureus* e *B. subtilis*. A triagem fitoquímica deste extrato revelou a presença de alcalóides, antraquinonas, flavonóides e saponinas (PAHADIA *et al.*, 2013). Apesar de serem da mesma família a comparação direta destes resultados é complexa, considerando que os metabólitos secundários podem variar, de acordo com a parte do vegetal utilizada e as condições que as plantas foram submetidas, além das diferenças nas concentrações dos produtos vegetais avaliados e diferenças nas cepas das espécies bacterianas testadas.

A triagem fitoquímica do extrato de *A. aculeata* apresentou flavonóides e taninos (Tabela 1 – Anexo B), que também foram encontrados nos extratos das espécies da família Arecaceae citadas acima, que apresentaram atividade antibacteriana. Estes metabólitos também são descritos na literatura por apresentarem ação antibacteriana (QUEIROZ *et al.*, 2015; RIVERO-CRUZ *et al.*, 2009). Dessa forma, pode ser que embora presentes, estariam

em baixas concentrações ou serem quimicamente diferentes, impossibilitando sua atividade antibacteriana neste extrato. Outro ponto a ser considerado é que não foi observada atividade para este extrato nas doses avaliadas e no modelo experimental adotado.

O extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk. alterou a coloração da Resazurina o que impossibilitou a avaliação de sua atividade antibacteriana (Tabela 2 – Anexo B). Na caracterização química desta espécie foram encontradas as seguintes classes de metabolitos: terpenóides, flavonóides, taninos e saponinas (Tabela 1 – Anexo B), que tem sido comumente encontrada em outras plantas deste gênero, que tem apresentando essa atividade e, que talvez, pudessem conferir atividade também ao extrato desta planta. Por exemplo, atividade antibacteriana foi observada para o extrato aquoso de *Alternanthera sessilis* contra cepas resistentes de *E. coli*. Na composição química deste extrato foram encontrados taninos (UNNI *et al.*, 2009). Os extratos etanólico das folhas de *A. sessilis* e *Alternanthera philoxeroides* mostraram certo grau de inibição de crescimento para as seguintes espécies de bactérias: *S. aureus*, *Staphylococcus heamolyticus*, *Enterococcus faecaalis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Proteus vulgaris* e *P. mirabilis*. No extrato de ambas as espécies foram encontrados terpenóides, flavonóides, taninos, saponinas, alcalóides, glicosídeos, carboidratos, esteróides, fenóis e aminoácidos (SIVAKUMAR & SUNMATHI, 2016). A atividade antibacteriana foi encontrada para o extrato metanólico de *Alternanthera repens* contra *S. aureus*, *B. subtilis*, *Bacillus cereus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *P. mirabilis* e o mesmo apresentou saponinas, alcalóides e terpenóides (OGUNDARE & OLADEJO, 2014).

O extrato de *B. oxyclada* apresentou uma fraca atividade, sendo registrada uma CIM de 1000 µg/mL para a espécie *P. aeruginosa* com ação bactericida (Tabela 2 – Anexo B). Esta espécie não havia sido investigada quanto a sua ação antibacteriana, mas para outras espécies do seu gênero são relatadas potencial atividade antimicrobiana. O extrato etanólico de *Banisteriopsis caapi* foi ativo contra *S. aureus* e *E. coli*, com valores de CIM de 0,00625 e 1 mg/mL, respectivamente (BUSSMANN *et al.*, 2010). Extrato etanólico das folhas de *Banisteriopsis anisandra* a 430 mg/mL provocou inibição de crescimento de *S. aureus* (PÁDUA *et al.*, 2013). Diferencialmente do observado nestes estudos, o extrato aqui avaliado não foi ativo contra essas espécies.

O extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* apresentou flavonóides, terpenóides e taninos (Tabela 1 – Anexo B), que poderiam ter contribuído para a atividade antibacteriana

encontrada para o mesmo, uma vez que compostos, destas classes, isolados de espécies de sua família botânica, são relatados por apresentarem atividade antibacteriana. Uma mistura de flavonóides (rutina, isoquercetina e afzelina) isolados das folhas de *Bunchosia armeniaca*, apresentou atividade para *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E. coli* (QUEIROZ *et al.*, 2015). Das sementes de *Byrsonima crassifolia* foi isolado um composto (diterpeno labdano), pertencente à classe dos terpenóides, que inibiu o crescimento de *S. aureus* (CIM de 32,41 µg/mL), além de outras nove espécies de bactérias (MUNIZ-RAMIREZ *et al.*, 2014). β-amirina (terpenóide), quercetina (flavonóide), epicatequina (flavonóide), ácido gálico e ácido oleanólico (terpenóide), isolados a partir de *B. crassifolia* inibiram o crescimento das bactérias com concentrações que variaram de 64-1088 µg/mL (RIVERO-CRUZ *et al.*, 2009).

O extrato das folhas de *C. adamantium* não apresentou atividade sobre nenhuma das bactérias avaliadas (Tabela 2 – Anexo B). Semelhantemente a estes resultados, Kataoka *et al.* (2008) verificaram que o extrato etanólico de suas folhas também não apresentou atividade contra as bactérias testadas (*S. aureus* e *P. aeruginosa*). No entanto, o extrato etanólico das cascas dos frutos apresentou inibição para *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *Streptococcus pyogenes*. Em ambos os extratos foram identificados à presença de flavanonas e chalconas, pertencentes à classe dos flavonóides.

O extrato hexânico e a fração hexânica, ricos em substâncias terpênicas, obtidos dos frutos de *C. adamantium* foram ativos contra *S. aureus* (CIM de 15,0 e 10,0 µg/mL, respectivamente), *P. aeruginosa* (CIM de 15,0 e 10,0 µg/mL, respectivamente) e *E. coli* (CIM de 20,0 e 20,0 µg/mL, respectivamente) (CARDOSO *et al.*, 2010). O extrato acetato de etila e suas frações, obtidos dos frutos de *C. adamantium*, apresentaram uma atividade promissora contra *Mycobacterium tuberculosis* com valores de CIM variando desde 39 a acima de 250 µg/mL. A avaliação química mostrou que tanto o extrato como as frações apresentaram substâncias pertencentes à classe dos flavonóides (PAVAN *et al.*, 2009). Em todos estes estudos, os extratos desta espécie foram provenientes de seus frutos, o que poderia explicar a ausência de atividade do extrato de suas folhas. Contudo a triagem fitoquímica revelou a presença de flavonóides e terpenóides (Tabela 1 - Anexo B) que foram detectados naqueles. Dessa forma, seria coerente que o mesmo tivesse exercido atividade frente às bactérias avaliadas, no entanto estes metabólitos podem estar em baixas concentrações e apresentarem particularidades químicas distintas, não conferindo ao extrato tal atividade.

O extrato etanólico oriundo da raiz de *C. ovalifolia* não demonstrou atividade frente às espécies de bactérias utilizadas neste estudo. Já o extrato de suas partes aéreas não pôde ser avaliado, visto que alterou a coloração da Resazurina (Tabela 2 – Anexo B). Esta espécie não possui estudos de avaliação desta atividade. Porém, outras espécies do gênero *Cissampelos* apresentaram uma potencial ação antibacteriana. O extrato metanólico da raiz de *Cissampelos pareira* foi ativo contra *S. aureus*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae* e *E. coli*. Neste extrato foi detectada a presença de alcalóides, flavonóides, taninos, terpenos e esteroides e, foram atribuídos a estes a ação antibacteriana (TOR-ANYIIN *et al.*, 2007). A fração de alcalóides terciários totais (TTA) obtida das partes aéreas e raízes de *Cissampelos capensis* apresentou forte atividade contra o *B. subtilis* (BADAJIDE *et al.*, 2015). Extratos de *Cissampelos mucronata* foram também ativos contra *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera*, *Bacillus anthracis* e *Streptococcus faecalis*. Contudo, o extrato etanólico foi o mais ativo contra *V. cholera*, enquanto o diclorometano da mesma foi mais ativo contra *S. typhi* e *B. anthracis* (NONDO *et al.*, 2011).

Terpenóides, flavonóides, alcalóides e taninos que foram associados com a ação antibacteriana dos extratos de *C. parreira* e *C. capensis* (TOR-ANYIIN *et al.*, 2007; (BADAJIDE *et al.*, 2015) e de várias outras espécies de plantas (MATHABE *et al.*, 2008; SAXENA & KALRA, 2011; ORHAN *et al.*, 2010; QUEIROZ *et al.*, 2015; BASILE *et al.*, 1999; SCAZZOCCHIO *et al.*, 2001; SUÁREZ *et al.*, 2011; SCALBERT, 1991; DOSS *et al.*, 2009), foram também encontrados nos extratos da raiz e das partes aéreas de *C. ovalifolia*, com exceção de alcalóides para este último (Tabela 1 – Anexo B). Mesmo com a presença destas classes, o extrato da raiz não foi ativo como observado para outras plantas do gênero. Contudo, estes metabólitos poderiam estar em baixas concentrações nos extratos avaliados, pois existem variações qualitativas e quantitativas no metabolismo secundário de espécies vegetais, devido as diferentes condições ambientais e climáticas. Ainda assim, a comparação entre os resultados é difícil, devido as diferenças que existem dentro de espécies pertencentes ao mesmo gênero e o tipo de solvente extrator utilizado para obtenção dos extratos e/ou fração.

O extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus* não foi ativo contra as bactérias avaliadas (Tabela 2 – Anexo B). Estes resultados estão em desacordo com o seu uso na medicina popular no tratamento de infecções (ROSAL *et al.*, 2007; MESSIAS *et al.*, 2015; SILVÉRIO *et al.*, 2008). Atividade antibacteriana tem sido associada a algumas espécies vegetais da mesma família de *E. erythropappus* (Asteraceae), sendo esta atividade geralmente

associada a presença de terpenóides. Por exemplo, da espécie *Vevesinu perimeniorides* foi isolado o terpenóide taraxasterol que apresentou atividade contra *S. aureus* (VILLARREAL *et al.*, 1994). Embora terpenóides também tenham sido identificados na triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus* aqui estudado (Tabela 1 – Anexo B), pode ser que estavam em baixas concentrações ou apresentarem outra particularidade química, justificando as discrepâncias dos resultados.

O extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum* não apresentou atividade antibacteriana sobre as espécies de bactérias utilizadas no estudo (Tabela 2 – Anexo B). Não foram encontrados estudos de avaliação da atividade antibacteriana para esta espécie. Entretanto, outras espécies do gênero *Eryngium*, apresentaram atividade antibacteriana ao serem avaliadas. Por exemplo, os extratos aquoso e metanólico das folhas de *Eryngium foetidum* foram ativos contra *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *Shigella dysenteriae* e *Shigella sonnei*, porém, estes extratos não inibiram o crescimento de *S. typhimurium*, *Shigella flexneri* e *Vibrio cholera* (PANDA *et al.*, 2016). O óleo essencial, rico em sesquiterpenos, foi obtido de *Eryngium tricuspidatum*, exibindo interessante atividade antibacteriana (MERGHACHE *et al.*, 2014). Extratos de *Eryngium campestre* apresentaram atividade contra *P. aeruginosa*, *S. epidermidiss*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* e *E. coli* (USTA *et al.*, 2014).

A partir destes dados, torna-se evidente que os terpenóides foram a principal classe associada à atividade em plantas deste gênero. Eles também foram identificados na triagem fitoquímica do extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum* (Tabela 1 – Anexo B). Contudo, no presente estudo não foi observada atividade. Apesar de serem do mesmo gênero, sendo esperada a presença destes em todas as espécies, deve-se considerar que alterações na expressão destes metabólitos são possíveis, inclusive na mesma espécie vegetal, devido às influências climáticas e ambientais a que são submetidas, devido às diferenças genéticas e ontogênicas.

Extrato etanólico das folhas de *P. rigida* não apresentou atividade sobre as bactérias analisadas neste estudo (Tabela 2 – Anexo B). Semelhantemente a estes resultados, de acordo com Lima *et al.* (2015a), o extrato etanólico das folhas de *P. rigida* não demonstrou atividade frente a *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *E. faecalis* (CIM > 1000 µg/mL) e, sua triagem fitoquímica revelou a presença de flavonóides, alcalóides e taninos. Destes metabólitos, alcalóides e taninos também estavam presentes no extrato etanólico das folhas de *P. rigida*

(Tabela 1 – Anexo B). Estes dados mostram que os resultados aqui apresentados estão em concordância com a literatura.

O extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa* foi ativo contra *P. aeruginosa* até a concentração de 250 µg/mL (forte atividade) e para *S. aureus* até a concentração de 1000 µg/mL (fraca atividade), ambos com ação bactericida (Tabela 2 – Anexo B). Na triagem fitoquímica foi observada a presença de flavonóides e terpenóides (Tabela 1 – Anexo B). Não foram encontrados na literatura dados concernentes a essa atividade para esta espécie ou outras do gênero. Todavia, espécies de sua família botânica (Malpighiaceae) são citadas por apresentarem atividade antibacteriana, geralmente, associada à presença das classes dos terpenóides e flavonóides, observados na referida espécie. Os flavonóides (rutina, isoquercetina e afzelina) isolados das folhas de *Bunchosia armeniaca* foram ativos contra *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E. coli* (QUEIROZ *et al.*, 2015). Um terpenóide (diterpeno labdano) isolado das sementes de *Byrsonima crassifolia* inibiu o crescimento de *S. aureus* (CIM de 32,41 µg/mL) e de outras espécies de bactérias (MUNIZ-RAMIREZ *et al.*, 2014). Terpenóides (β-amirina e ácido oleanólico), flavonóides (quercetina e epicatequina) e ácido gálico, provenientes de *B. crassifolia* inibiram o crescimento das bactérias com concentrações que variaram de 64-1088 µg/mL (RIVERO-CRUZ *et al.*, 2009).

Outras espécies desta família botânica também tiveram atividade antibacteriana relatada, como para substância (nitrocomposto) isolada de *Heteropteris afrodisiaca* (ROMAN-JÚNIOR, 2002), para os extratos metanólicos, hidrometanólicos e clorofórmio das folhas de *Byrsonima intermedia*, *Byrsonima basiloba* e *Byrsonima fagifolia* (MICHELIN *et al.*, 2008), para o extrato da polpa da fruta de *Malpighia emarginata* (PAZ *et al.*, 2015) e para o extrato etanólico das folhas e uma mistura de flavonóides de *Bunchosia armeniaca* (QUEIROZ *et al.*, 2015). Desta forma, maiores investigações químicas são necessárias para avaliar quais compostos seriam responsáveis por esta atividade, considerando que foi a espécie que apresentou forte atividade e contra o maior número de bactérias entre as avaliadas.

O extrato etanólico de *S. rugosa* foi ativo até a concentração de 500 µg/mL, apresentando uma moderada atividade para *S. aureus*, com ação bacteriostática (Tabela 2 – Anexo B). Estes dados corroboram com os do estudo realizado por Eberhardt (2012), onde o extrato etanólico das folhas de *S. rugosa* demonstrou atividade antibacteriana contra *S. aureus* com ação bacteriostática e não foi ativo contra *E. coli*, quando ensaiado pela técnica de

difusão em meio sólido. Este tipo de ação não provoca a morte do micro-organismo, só inibe o seu crescimento. A falta de uma ação bactericida efetiva é uma desvantagem, considerando infecções bacterianas em pacientes imunocomprometidos e a ocorrência de cepas multirresistentes.

O crisofanol (antraquinona), campferol (flavonóide) e o β -sitosterol (terpenóide), isolados de outras espécies do gênero, a *Senna reticulata* (SANTOS *et al.*, 2008), são descritos na literatura por terem ação antibacteriana (GARCÍA-SOSA *et al.*, 2006; KATAOKA *et al.*, 2001; SINGH & SINGH, 2003). Todas estas classes de metabólitos secundários também foram encontradas na triagem fitoquímica preliminar do extrato de *S. rugosa* (Tabela 1 – Anexo B). Dessa forma, a atividade apresentada para o extrato etanólico das folhas de *S. rugosa* pode estar associada à presença de tais classes neste extrato. Logo, o fracionamento deste extrato poderia fornecer substâncias que apresentassem maior atividade antibacteriana.

O extrato etanólico produzido com toda a planta *T. cathartica* não apresentou atividade antibacteriana para as espécies avaliadas neste estudo (Tabela 2 – Anexo B). Não foram encontrados na literatura estudos referentes a esta e a outras espécies do gênero *Trimezia*, quanto a esta atividade. Algumas espécies pertencentes a sua família botânica (Iridaceae) demonstram atividade antibacteriana. Como exemplo, Baumgart (2014) relatou que as naftoquinonas, isoeleuterina e eleuterina, de *Cipura paludosa* apresentaram atividade inibitória frente às bactérias *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. typhimurium*. Diferentes extratos do rizoma de *Iris croceae*, *Iris ensata*, *Iris germanica*, *Iris hookeriana* e *Iris kashmiriana* apresentaram um amplo espectro de atividade antibacteriana (WANI *et al.*, 2012). Os extratos brutos das folhas, flores e rizomas de *Dietes bicolor* apresentaram interessante atividade contra *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* e *E. coli* (AYOUB *et al.*, 2014). Mesmo todas estas espécies pertencendo à mesma família que *T. cathartica*, a comparação entre os resultados é complexa, pois se trata de espécies diferentes e não, necessariamente, a constituição química entre estas segue o mesmo padrão qualitativo e quantitativo dos metabólitos secundários. Além do mais, alguns estudos utilizaram substâncias isoladas, partes vegetais, solvente extrator e bactérias diferentes, em relação ao presente estudo.

Na triagem fitoquímica do extrato de toda espécie *T. cathartica* foi encontrada somente a classe dos flavonóides (Tabela 1 – Anexo B). Este tipo de metabólito é descrito na literatura por apresentar atividade antibacteriana, frente a diversas espécies (ORHAN *et al.*,

2010; BASILE *et al.*, 1999; TALEB-CONTINI *et al.*, 2003). Contudo, pode ser que o mesmo estava presente neste extrato em concentrações insuficientes para promover atividade antibacteriana ou o tipo de estrutura presente apresentava uma baixa ou ausência de atividade.

5.2.6 Avaliação da atividade antifúngica dos extratos

Como abordado em relação aos estudos de avaliação da atividade antibacteriana, também para a avaliação de atividade antifúngica, não há critérios para classificação da atividade exercida por produtos naturais quanto à concentração que pode ser considerada com efeito antifúngico promissor. Por exemplo, Menezes *et al.* (2009) consideraram os seguintes critérios para aceitação da atividade antifúngica de extratos brutos de plantas: abaixo de 100 mg/mL, como detentores de boa atividade; entre 101 e 500 mg/mL de moderada atividade; entre 501 e 1000 mg/mL de fraca atividade; e acima de 1001 mg/mL como inativos. Outro estudo considerou que extratos com uma CIM inferior a 100 µg/mL apresentaram boa atividade; de 100 a 500 µg/mL fraca atividade; e acima de 1000 µg/mL foram inativos (HOLETZ *et al.*, 2002). Duarte *et al.* (2005) consideraram uma CIM de até 500 µg/mL como reflexo de alta capacidade de inibição fúngica; de 600 a 1550 µg/mL como uma inibição moderada; e acima de 1650 µg/mL com uma baixa inibição. Já em outro estudo extratos com uma CIM de 50 a 500 µg/mL foram considerados como detentores de uma forte atividade antifúngica; de 600 a 1500 µg/mL como uma atividade moderada; e acima de 1500 µg/mL como uma fraca atividade (SARTORATTO *et al.*, 2004). Desta forma, no presente estudo foram adotados os mesmos critérios para avaliação da atividade antifúngica: extratos com CIM até 250 µg/mL foram classificados como forte atividade antifúngica, entre 250 e 750 µg/mL com atividade moderada; de 750 a 1000 µg/mL com fraca atividade, e > 1000 µg/mL sem atividade antifúngica.

Dos extratos avaliados nenhum apresentou atividade frente às espécies de fungos filamentosos, com o modelo experimental adotado. Para as leveduras testadas somente os extratos etanólicos de toda espécie *T. cathartica*, das folhas de *P. rigida* e das folhas de *A. aculeata* não foram ativos frente a estes micro-organismos (Tabela 3 – Anexo B).

O extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum* não foi ativo para os fungos filamentosos (CIM > 1000 µg/mL), mas demonstrou uma fraca atividade para *C. albicans*

(CIM de 1000 µg/mL, com ação fungistática), uma moderada atividade para *C. famata* (CIM de 500 µg/mL, com ação fungicida), uma forte atividade para *C. krusei* (CIM de 125 µg/mL, com ação fungistática) e *C. tropicalis* (CIM de 250 µg/mL, com ação fungistática) (Tabela 3 – Anexo B). Dos extratos avaliados, este foi o quarto mais ativo e de maior espectro de ação. Na literatura o único estudo de atividade antifúngica concernente a esta espécie foi o realizado empregando o extrato metanólico das cascas raízes de *A. dasycarpum*, em que foi ativo contra o fungo *Tricophyton mentagnophytes*, que não foi avaliado neste estudo (TREVISAN, 2002).

Algumas plantas de sua mesma família botânica, Fabaceae, também apresentaram atividade antifúngica que foi relacionada à presença de terpenóides (MADRID *et al.*, 2012; LAGHARI *et al.*, 2012), alcalóides (ERDEMOGLU *et al.*, 2007; REGASINI *et al.*, 2010), flavonóides (ROJAS *et al.*, 2006; SVETAZ *et al.*, 2004), taninos (ISHIDA *et al.*, 2009; LUIZ *et al.*, 2015) e antraquinonas (WUTHI-UDOMLERT *et al.*, 2010). Estes metabólitos também foram encontrados no extrato etanólico das folhas de *A. dasycarpum* (Tabela 1 – Anexo B) e, provavelmente, a atividade antifúngica apresentada deve estar associada à presença destes metabólitos secundários no extrato.

O extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* não foi ativo para nenhuma das espécies fúngicas avaliadas (CIM > 1000 µg/mL) (Tabela 2 – Anexo B). Oliveira *et al.* (2016) avaliaram extrato etanólico das folhas desta espécie, que também não demonstrou atividade antifúngica frente a *C. albicans* e a *C. parapsiolis*. Entre os metabólitos presentes neste extrato estavam flavonóides e taninos, que também foram encontrados no extrato etanólico das folhas de *A. aculeata* (Tabela 1 – Anexo B). Tais classes são descritas por apresentarem ação antifúngica (SANCHES *et al.*, 2005; KANWAL *et al.*, 2010; CASTILLO *et al.*, 2012). Contudo, em ambos os extratos poderiam estar em concentrações inferiores as desejáveis para exercer sua ação antifúngica ou estarem em misturas com substâncias com atividade antagonica ou ainda apresentarem particularidades estruturais não favoráveis a atividade antifúngica.

O extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk. não pode ser avaliado quanto a sua atividade antifúngica, pois este alterou a coloração da Resazurina, não sendo possível esta avaliação (Tabela 3 – Anexo B). Algumas espécies do gênero *Alternanthera* tem apresentado tal atividade, como *Alternanthera brasiliana* (JOHANN *et al.*, 2007), *Alternanthera maritima* (SALVADOR *et al.*, 2003) e *Alternanthera philoxeroides* (PULIPATI *et al.*, 2016). Para o extrato etanólico das folhas desta última espécie foram encontradas as seguintes classes de

metabólitos: alcalóides, esteróides, flavonóides e taninos (PULIPATI *et al.*, 2016), semelhantemente ao encontrado para o extrato etanólico das folhas de *Alternanthera* Forssk (Tabela 1 – Anexo B) em estudo.

O extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada* não teve efeito inibitório sobre os fungos filamentosos, *P. expansum* e *A. niger* (CIM > 1000 µg/mL), mas foi capaz de inibir fortemente *C. albicans* (CIM de 15,62 µg/mL, com ação fungistática), *C. famata* (CIM de 31,25 µg/mL, com ação fungistática), *C. krusei* (CIM de 62,5, com ação fungistática) e *C. tropicalis* (CIM de 62,5 µg/mL, com ação fungistática) (Tabela 3 – Anexo B). Esta espécie não teve sua atividade antifúngica investigada, todavia espécies de seu gênero apresentam atividade antifúngica, como pode ser observado para o extrato etanólico de *Banisteriopsis anisandra* que apresentou atividade contra *Rhizotonia solani*, *Fusarium oxysporum* e *C. albicans* (PÁDUA *et al.*, 2013). Dessa mesma espécie também foi isolado o composto fenantreno (terpenóide) que teve atividade contra *C. albicans* (CIM de 31,25 µg/mL), *C. krusei* (CIM de 31,25 µg/mL), *C. parapsilosis* (CIM de 31,25 µg/mL) e *C. tropicalis* (CIM de 125 µg/mL) (FREITAS *et al.*, 2015). Dessa forma, terpenóides podem ter sido os responsáveis pela atividade antifúngica apresentada para o extrato etanólico das folhas de *B. oxyclada*, uma vez triterpenos e estetróides que foram detectados na triagem fitoquímica (Tabela 1 – Anexo B).

Além de terpenóides, flavonóides, taninos e saponinas foram encontrados neste extrato (Tabela 1 – Anexo B) e representam classes com propriedades antifúngicas (VIRIATO *et al.*, 2013; ROJAS *et al.*, 2006; SANCHES *et al.*, 2005; TSUZUKI *et al.*, 2007). Assim, também poderiam ter contribuído para a atividade antifúngica do extrato de *B. oxyclada*. O mecanismo de ação antifúngica destas classes de metabólitos secundários baseia-se na interação com moléculas da parede/membrana fúngica (ARIF *et al.*, 2010; SCHENKEL *et al.*, 2001; MELLO & SANTOS, 2001; SIKKEMA *et al.*, 1994).

O extrato etanólico das folhas de *C. adamantium* não inibiu o crescimento dos fungos filamentosos, *P. expansum* e *A. niger* (CIM > 1000 µg/mL), contudo apresentou forte atividade frente *C. albicans* (CIM de 31,25 µg/mL, com ação fungistática), *C. famata* (CIM de 62,5 µg/mL, com ação fungistática), *C. krusei* (CIM de 62,5 µg/mL, com ação fungistática) e *C. tropicalis* (CIM de 125 µg/mL, com ação fungistática) (Tabela 3 – Anexo B).

A atividade antifúngica apresentada pelo extrato de *C. adamantium* está em acordo com a literatura, pois outros estudos também relatam atividade antifúngica para esta espécie, embora tenha sido utilizada parte distinta da planta. Segundo Kataoka *et al.* (2008) o extrato

etanólico das cascas de seus frutos provocou inibição para *C. albicans*. Neste extrato foram identificados vários compostos pertencentes a classe dos flavonóides, sendo quatro flavanonas e uma chalcona. O óleo essencial rico em terpenóides, extraído desta espécie em sua fase reprodutiva, apresentou uma boa atividade contra *C. albicans* (COUTINHO *et al.*, 2009). O extrato hexânico e a fração hexânica obtidos a partir dos frutos de *C. adamantium* também exibiram atividade frente *C. albicans* (ATCC 10231), com CIM de 20 µg/mL em ambos os produtos vegetais, e *S. cerevisiae* (ATCC 2601), com CIM de 15 µg/mL para o extrato e a fração hexânica. A análise química do extrato e da fração revelou a presença presentes flavonóides e terpenóides (CARDOSO *et al.*, 2010).

A presença de flavonóides e terpenóides, também foi identificada no extrato etanólico das folhas de *C. adamantium* (Tabela 1 – Anexo B) e poderiam estar associados a esta atividade. Flavonóides possuem ação antifúngica através da formação de complexos com proteínas solúveis nas paredes das células fúngicas ou pelo rompimento da membrana fúngica (ARIF *et al.*, 2010; SALAS *et al.*, 2010). Já os terpenóides não possuem seu mecanismo de ação bem definido, mas sugere-se que este seja por meio de interação com a membrana citoplasmática do micro-organismo (SIKKEMA *et al.*, 1994).

Devido à reação da Resazurina com o extrato etanólico das partes aéreas de *C. ovalifolia*, este não pode ser avaliado frente as espécies fúngicas. Já o extrato da raiz desta espécie exibiu moderada atividade frente a *C. albicans*, *C. famata* e *C. tropicalis* (CIM de 500 µg/mL, com ação fungistática), fraca atividade sobre *C. krusei* (CIM de 1000 µg/mL, com ação fungistática) e não foi ativo para *P. expansum* e *A. niger* (CIM > 1000 µg/mL) (Tabela 3 – Anexo B).

Atividade antifúngica tem sido associada a outras plantas deste gênero O extrato diclorometânico de toda a espécie *Cissampelos pareira* não demonstrou atividade para *C. albicans* na concentração de 1000 e 500 µg/mL, porém, inibiu completamente o crescimento de *A. niger* na concentração de 1000 e 500 µg/mL (KUMAR *et al.*, 2006). Extratos etanólico e diclorometânico das partes aéreas e das raízes de *Cissampelos mucronata* apresentou atividade sobre *C. albicans* e *C. neoformans* (NONDO *et al.*, 2011). O extrato metanólico das partes aéreas de *Cissampelos owarensis* teve efeito inibitório sobre *C. albicans* (HAGE *et al.*, 2010). Uma fração de alcalóides de *Cissampelos capensis* inibiu o crescimento de *C. albicans*, *Candida eropiralis* e *A. niger* (BABAJIDE *et al.*, 2010). Como a triagem fitoquímica preliminar do extrato das raízes de *C. ovalifolia* apresentou alcalóides (Tabela 1 –

Anexo B), esta classe de metabólito pode ter sido a responsável pela atividade antifúngica que o extrato da raiz de *C. ovalifolia* apresentou, assim como foi para *C. capensis*.

Além disso, tanto o extrato das partes aéreas e da raiz apresentaram terpenóides, flavonóides e taninos (Tabela 1 – Anexo B), metabólitos que apresentaram ação antifúngica já descrita (TATSIMO *et al.*, 2012; SOLIS *et al.*, 2004; MOREY *et al.*, 2016). Assim, tais classes também poderiam ter contribuído para atividade do extrato da raiz de *C. ovalifolia*, sendo esperada também tal atividade para o extrato das suas partes aéreas. Consequentemente, tornam-se necessárias maiores investigações químicas deste extrato a fim de isolar a (s) substância (s) responsável (eis) por tal atividade, que poderia fornecer uma atividade mais potente e contra um maior número de espécies fúngicas.

O extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus* não foi ativo para *C. famata*, *P. expansum* e *A. niger* (CIM > 1000 µg/mL), porém este extrato apresentou fraca atividade para *C. albicans* (CIM de 1000 µg/mL. com ação fungistática), forte atividade para *C. krusei* (CIM de 250 µg/mL, com ação fungistática) e moderada atividade para *C. tropicalis* (CIM de 500 µg/mL, com ação fungistática) (Tabela 3 – Anexo B).

Corroborando com os resultados aqui apresentados, segundo Santos *et al.* (2015) o óleo essencial das folhas e ramos de *E. erythropappus* apresentou atividade frente *C. albicans* (CIM de 0,17 e 1,35 µg/mL, respectivamente). O (–)- α -bisabolol (sesquiterpenos), era o constituinte majoritário presente neste óleo essencial e semelhantemente apresentou uma boa atividade frente esta levedura. Silvério *et al.* (2013) também mostraram que o óleo essencial apresentou terpenóides como compostos majoritários, extraído das inflorescências, das folhas frescas, das folhas secas e dos ramos de *E. erythropappus*. Estes exibiram forte atividade contra *C. albicans* (CIM de 125, 15, 60 e 100 µg/mL, respectivamente) e *C. tropicalis* (CIM de 125, 60, 125 e 100 µg/mL, respectivamente).

Assim, os resultados aqui apresentados estão em concordância com a literatura e a atividade antifúngica do extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus* pode estar relacionada também à presença de terpenóides em sua composição, conforme os resultados obtidos na triagem fitoquímica (Tabela 1 – Anexo B).

O extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum* não foi ativo para *C. albicans*, *C. tropicalis*, *P. expansum* e *A. niger* (CIM > 1000 µg/mL). Entretanto, apresentou fraca atividade para *C. famata* (CIM de 1000 µg/mL, com ação fungicida) e moderada atividade

para *C. krusei* (CIM de 500 µg/mL, com ação fungistática) (Tabela 3 – Anexo B). Para esta espécie vegetal não foram encontrados estudos de avaliação de sua atividade antifúngica. No entanto, outras espécies do gênero *Eryngium* são reportadas por apresentar tal atividade. Por exemplo, o óleo essencial das folhas de *Eryngium duriaei* subsp. *juresianum* foi ativo para diversas espécies de fungos, mas também não apresentou atividade para *C. albicans* e *C. tropicalis* (CAVALEIRO *et al.*, 2011). Os extratos aquoso e orgânico de toda espécie *Eryngium campestre* também não inibiram o crescimento de *C. albicans* (JARADAT *et al.*, 2015). No estudo de Lingaraju *et al.* (2016) o extrato de acetato de etila das folhas de *Eryngium foetidum* apresentou inibição do crescimento de *C. albicans*, superior ao fármaco padrão nistatina. Das partes aéreas de *Eryngium tricuspidatum* foi extraído óleo essencial que também apresentou atividade sobre *C. albicans* (CIM de 4,6 µg/mL), sendo que a composição química deste óleo apresentou uma grande quantidade de sesquiterpenos oxigenados (terpenóides) (MERGACHE *et al.*, 2014). Em geral, o fato das espécies de *Eryngium* apresentarem uma ação mais abrangente do que a espécie avaliada no presente estudo, pode estar relacionado à utilização de óleo essencial ou pode ser devido aos tipos de solventes extratores utilizados, que pode levar a uma maior concentração de diferentes classes químicas associadas à atividade antifúngica.

Na triagem fitoquímica do extrato etanólico das partes aéreas de *E. horridum*, também foi observada a presença de terpenóides, além de taninos e saponinas (Tabela 1 – Anexo), que são relatados em outras espécies vegetais por apresentarem ação antifúngica (MADRID *et al.*, 2012; LUIZ *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2006) e poderiam estar correlacionadas a atividade observada para este extrato contra algumas espécies fúngicas.

O extrato etanólico das folhas de *P. rigida* não foi ativo para nenhuma das espécies de fungos avaliadas (CIM > 1000 µg/mL) (Tabela 3 – Anexo B). Vieira *et al.* (2009) ao avaliarem o óleo essencial desta mesma espécie também não observaram atividade sobre *C. albicans*. Rodrigues *et al.* (2014) ao estudarem extratos de natureza química diferente provenientes de outras espécies do gênero *Palicourea*, observaram respostas distintas frente a algumas espécies de fungos. O extrato aquoso e metanólico das folhas de *Palicourea guianensis* apresentaram atividade contra *C. albicans*, *Candida glabrata* e *C. parapsilosis*. O extrato diclorometânico desta mesma espécie foi inativo para todas estas espécies. Esta mesma observação pode ser feita para os extratos aquoso e metanólico das folhas de *Palicourea corymbifera*, que foram ativos para *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis*, enquanto o extrato diclorometânico desta mesma espécie não o foi (RODRIGUES *et al.*,

2014). Estas discrepâncias acontecem devido a fatores como o tipo de solvente que é utilizado na preparação dos extratos, que pode levar a extração de diferentes substâncias químicas, com ação antifúngica ou não. Além do mais, mesmo as espécies pertencendo a um mesmo gênero, diferenças na composição química existem. Assim, é difícil a comparação dos resultados aqui apresentados com os descritos nestes estudos, considerando que são espécies e extratos diferentes.

O extrato etanólico das folhas de *P. rigida* apresentou alcalóides, terpenóides, e saponinas (Tabela 1 – Anexo B), que são descritas por serem responsáveis pela atividade antifúngica de espécies de sua família botânica (Rubiaceae) (SILVA *et al.*, 2008; MATSUURA *et al.*, 2013). Assim, seria esperado que este extrato apresentasse tal atividade. Contudo, como o extrato bruto é uma mistura complexa de substâncias, estes metabólitos poderiam estar em concentrações baixas ou interagindo com outras substâncias, levando a diminuição de sua ação (MISTHER *et al.*, 1972).

O extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa* exibiu forte atividade para *C. albicans* (CIM de 31,25 µg/mL, com ação fungistática), *C. famata* (CIM de 15,62 µg/mL, com ação fungistática), *C. krusei* (CIM de 31,25 µg/mL, com ação fungistática) e *C. tropicalis* (CIM de 62,5 µg/mL, com ação fungistática). Para as espécies *P. expansum* e *A. niger* o extrato não apresentou atividade nas concentrações avaliadas (CIM > 1000 µg/mL) (Tabela 3 – Anexo B). Para esta espécie e outras do gênero não foram encontrados estudos concernentes à atividade antifúngica. Entretanto, espécies de sua família botânica (Malpighiaceae), como *Byrsonima coccolobifolia*, *Byrsonima intermedia*, *Banisteriopsis anisandra*, *Heteropteris afrodisiaca*, são descritas por apresentarem atividade antifúngica (PEREIRA *et al.*, 2011b; MOREIRA *et al.*, 2010; PÁDUA *et al.*, 2013; ROMAN-JÚNIOR *et al.*, 2005).

A atividade apresentada para o extrato etanólico das folhas de *P. tomentosa* pode ser devido à presença de flavonóides, terpenóides e taninos, identificados em sua triagem fitoquímica (Tabela 1 – Anexo B). Essa observação é corroborada pelo fato de espécies como, *Acridocarpus orientalis* e *Heteropteris byrsonimifolia*, também pertencentes à família Malpighiaceae, apresentarem atividade antifúngica atribuída à presença de flavonóides (HUSSAIN *et al.*, 2014; SANTOS-JUNIOR *et al.*, 2014), assim como para os extratos oriundos de espécies de *Byrsonima* (Malpighiaceae), que em sua composição química foram encontrados flavonóides, terpenóides e taninos (MICHELIN *et al.*, 2008).

O extrato etanólico das folhas de *S. rugosa* não foi ativo para *C. albicans*, *P. expansum* e *A. niger* (CIM > 1000 µg/mL), contudo apresentou forte atividade para *C. famata* (CIM de 62,5 µg/mL, com ação fungistática), *C. krusei* (62,5 µg/mL, com ação fungistática) e *C. tropicalis* (CIM de 125 µg/mL, com ação fungistática) (Tabela 3 – Anexo B). Esta espécie não foi avaliada previamente quanto a esta atividade, porém para outras espécies deste gênero há relatos associados a sua ação antifúngica. O extrato bruto das folhas de *Senna alata* foi ativo contra *Microsporum canis*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Epidermophyton floccosum* (SULE *et al.*, 2010). Extrato de *Senna obtusifolia* inibiu o crescimento de *A. niger*, *Aspergillus tamari*, *C. albicans* e *Fusarium oxysporum* (DOUGHARI *et al.*, 2008). Já do extrato das folhas de *Senna racemosa*, foi isolado um alcalóide que inibiu o crescimento de *C. albicans* (CIM de 5,0 mg/mL) (SANSORES-PERAZA *et al.*, 2000). Como os dados aqui apresentados, extratos aquosos provenientes de flor, caule, folha e vagem de *Senna tora*, *Senna spectabilis* e extrato metanólico das folhas de *Senna podocarpa* não inibiram o crescimento de *C. albicans* (CHUKEATIROTE *et al.*, 2007; OGUNDARE *et al.*, 2009).

Várias antraquinonas isoladas de *Senna alata* apresentaram atividade contra diferentes espécies de fungos (WUTHI-UDOMLERT *et al.*, 2010). Esta classe de metabólito secundário também foi encontrada no extrato etanólico das folhas de *S. rugosa* (Tabela 1- Anexo B), podendo ser responsável por sua atividade. Além destas foram detectados flavonóides, terpenóides e taninos, já descritos por apresentarem ação antifúngica. Desta forma, investigações mais detalhadas para elucidar quais os compostos são provavelmente associadas a essa atividade ainda precisam ser realizados.

O extrato etanólico de toda planta *T. cathartica* não foi ativo para nenhuma das leveduras e fungos filamentosos avaliados (Tabela 3 – Anexo B). Os estudos sobre esta espécie são escassos e não foi encontrado nenhum sobre avaliação da atividade antifúngica desta e de outras espécies do gênero. No entanto, espécies de sua família botânica (Iridaceae) já apresentaram a atividade antifúngica investigada. O extrato metanólico do bulbo de *Gladiolus psittacinus* mostrou forte atividade inibitória contra *C. albicans* e *S. cerevisiae*, sendo observado em sua triagem fitoquímica alcalóides, antraquinonas, cumarinas, flavonóides, saponinas e taninos, além de outras substâncias (MUNYEMANA *et al.*, 2013). O extrato orgânico bruto das partes aéreas e do rizoma de *Gladiolus watsonoides* apresentou atividade contra *C. albicans*, *A. niger* e *C. neoformans*, porém o das partes aéreas não apresentou atividade para *A. niger* e *C. neoformans*. Em ambos os extratos foram detectados

as seguintes classes de metabólitos secundários: alcalóides, flavonóides, taninos, saponinas e terpenóides (ODHIAMBO, *et al.*, 2014). O extrato de *Eleutherine americana*, por sua vez, não inibiu o crescimento de *C. albicans* e *Candida utilis*, mas foi ativo para *A. niger* e *Penicillium* spp. (IFESAN *et al.*, 2010).

Os extratos citados acima apresentaram em sua composição química várias classes de metabólitos secundários que poderiam justificar a ação antifúngica observada, enquanto a triagem fitoquímica do extrato de *T. cathartica* revelou somente flavonóides (Tabela 1 – Anexo B). Tal fato pode explicar a ausência de atividade antifúngica por parte deste extrato, diferencialmente do que foi observado para os demais extratos avaliados neste estudo.

Diante de todos os resultados apresentados para as atividades biológicas e para a triagem fitoquímica dos extratos aqui avaliados, pôde-se perceber que algumas classes de metabólitos secundários foram comuns, assim como a atividade biológica apresentada para os extratos conforme sumariados na Tabela 4 do Anexo B. Os metabólitos de natureza terpênica (esteroides/triterpenos), flavonóides e taninos, foram os mais encontrados para os extratos avaliados, sendo que pelo menos duas destas classes foram identificadas na grande maioria dos extratos avaliados.

6. CONCLUSÕES

Os dados apresentados neste estudo permitiram ampliar o conhecimento científico acerca de várias espécies provenientes da região de Cerrado na região do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, relacionados a triagem fitoquímica e sobretudo a distintas atividades biológicas. Embora os ensaios sejam direcionados a triagem preliminar destas

atividades, os resultados são promissores e geraram dados relevantes quanto o potencial farmacológico de várias destas plantas. Estes dados são importantes para direcionar estudos químicos e biológicos adicionais, objetivando identificar metabólitos secundários que possam servir de fontes ou protótipos de novos fármacos.

A triagem fitoquímica preliminar sugeriu a presença de diferentes classes de metabólitos secundários para os extratos das espécies vegetais avaliadas. Esta é uma etapa importante no desenvolvimento de novos fármacos, principalmente, quando as espécies possuem escassez em estudos químicos, uma vez que o estudo fitoquímico permite conhecer os constituintes químicos nas espécies vegetais e a identificar os grupos de metabólitos secundários, de onde a maioria dos princípios ativos são provenientes. Em geral os metabólitos secundários encontrados foram semelhantes entre espécies do mesmo gênero e/ou família, apresentando correlação com a atividade apresentada conforme comparação de dados na literatura.

Dos 13 extratos avaliados com relação a citotoxicidade sobre fibroblastos de camundongos (linhagem L929) todos apresentaram citotoxicidade. Alguns destes extratos apresentaram elevada toxicidade sobre esta linhagem celular. Dessa forma, considerando que algumas dessas espécies são utilizadas na medicina popular como *Eremanthus erythropappus* no tratamento de úlceras e infecções, como anti-inflamatória, antibacteriana, adstringente e agente cicatrizante; *Cissampelos ovalifolia* como diurético, sudorífico, antifebril, tônico e narcótico; *Campomanesia adamantium* para disenteria, problemas do estômago, para febre, como anti-séptica das vias urinárias, anti-inflamatória, no tratamento da gripe e para recompor a flora intestinal; e que os extratos destas espécies foram os mais citotóxicos, torna-se importante o prosseguimento de estudos químicos mais aprofundados para avaliar se a substância responsável pela toxicidade é a mesma responsável pelas atividades farmacológicas destas espécies e, avaliando-o em modelos relacionados ao seu uso popular, eliminando assim potenciais riscos a saúde de quem as utilizam.

Na avaliação da atividade antitumoral, com exceção do extrato etanólico das folhas de *Palicourea rigida*, todos os outros extratos avaliados apresentaram atividade. Destes o mais promissor, considerando eficácia com relação ao paclitaxel, redução da viabilidade celular e IC_{50} , foi o extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus* seguido do extrato etanólico das folhas de *Acrocomia aculeata* e da raiz de *Cissampelos ovalifolia*, que também resultaram em uma boa eficácia quando comparado ao fármaco padrão. Contudo, estes extratos apresentaram

IS < 2, demonstrando sua falta de seletividade para células tumorais e toxicidade para células normais, o que poderia limitar seu uso clínico. Dessa forma, é necessário prosseguir com a avaliação destes extratos, promovendo o fracionamento e a investigação se as mesmas substâncias responsáveis por tal atividade, também seriam responsáveis pela toxicidade deste extrato frente a linhagem L929.

Dos 13 extratos avaliados quanto a atividade tripanocida sobre formas epimastigotas da cepa Colombiana de *T. cruzi*, nove foram ativos contra este parasito. Destes, dois apresentaram-se como os mais promissores, reduzindo significativamente a viabilidade deste parasito e apresentando boa eficácia, comparada ao benzonidazol, em todas as concentrações ativas, que foram os extratos das folhas de *A. aculeata* e das folhas de *E. erythropappus*. No entanto, estudos químicos mais aprofundados e em outros modelos experimentais são necessários para validar essa atividade e também a citotoxicidade das frações e substâncias isoladas, considerando que ambos os extratos apresentaram IS muito baixos, mostrando a falta de seletividade deles sobre *T. cruzi*.

Na avaliação da atividade leishmanicida para a cepa M2269 os extratos etanólicos das folhas de *E. erythropappus* e das folhas de *B. oxyclada* apresentaram como os mais promissores. Já para a cepa BH46 o extrato etanólico de toda espécie *T. catartica* foi o mais promissor, seguido também do extrato etanólico das folhas de *E. erythropappus*. Para ambas as cepas estes extratos reduziram significativamente a viabilidade parasitária em todas as concentrações ativas, apresentando boa eficácia quando comparadas a anfotericina B. Contudo, o isolamento de moléculas bioativas destes extratos também faz-se necessário, levando em consideração a toxicidade que os mesmos apresentaram, evidenciadas pelos baixos valores dos seus IS permitindo assim melhor avaliação deste parâmetro e também validação da atividade neste e em outros modelos *in vitro* e *in vivo*.

Na avaliação da atividade antibacteriana apenas os extratos etanólicos das folhas de *B. oxyclada*, de *P. tomentosa* e *S. rugosa* foram ativos, e as únicas bactérias sensíveis foram *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Destes o extrato etanólico de *P. tomentosa* inibiu um maior número de bactérias com ação bactericida, o que é desejável considerando a problemática de cepas bacterianas multirresistentes, sendo o mais promissor quanto a essa atividade entre os extratos avaliados.

No ensaio de atividade antifúngica os fungos filamentosos (*A. niger* e *P. expansum*) se mostraram resistentes a todos os extratos avaliados e *C. krusei* foi a levedura mais sensível.

Os extratos das folhas de *B. oxyclada* e das folhas de *P. tomentosa*, foram os extratos que inibiram o maior número de espécies fúngicas com os menores valores de CIM. Entretanto, o mecanismo de ação antifúngica de ambos os extratos foi fungistático, o que não desejável devido a problemas de cepas resistentes considerando o aumento da incidência de infecções fúngicas, principalmente, as oportunistas invasivas. Nesse sentido, torna-se necessário o prosseguimento de estudos químicos destes extratos com o intuito de isolar a substância responsável por tal atividade e, verificar se a mesma isolada possa fornecer resultados mais satisfatórios.

Os extratos etanólicos das folhas de *E. erythropappus*, de *P. tomentosa* e de *B. oxyclada* apresentaram o maior número de atividade biológicas e com os melhores resultados, o que torna estas espécies as mais promissoras como fontes potenciais de moléculas bioativas para o tratamento de Câncer, Doença de Chagas, Leishmanioses, infecções bacterianas e infecções fúngicas. Assim, foram selecionados por esse estudo, no intuito de direcionar a caracterização química e avaliação aprofundada das atividades observadas.

7. PERSPECTIVAS

Alguns dos extratos avaliados foram muito tóxicos para a linhagem L929, o que refletiu negativamente no IS considerando as diferentes atividades avaliadas. Contudo, muitos apresentaram atividades promissoras comparando a eficácia com os fármacos padrão, evidenciando a necessidade de estudos mais aprofundados, uma vez que a substância

responsável pela citotoxicidade do extrato pode não ser a mesma responsável pela atividade farmacológica, o que melhoraria os IS. Seu fracionamento poderia conduzir a uma potencialização da atividade e melhoria da seletividade, como verificado em alguns estudos. Além disso, muitos extratos apresentaram altos valores de IC₅₀. Nesse sentido, deve-se considerar que o extrato bruto possui grande quantidade de substâncias químicas, que podem interagir entre si e diminuir a ação da molécula responsável pela atividade e considerando que se trata de um extrato bruto, estas estão em baixas concentrações, sendo que o fracionamento e isolamento poderia potencializar as atividades observadas. Consequentemente, são perspectivas para futuros trabalhos:

- 1) Fracionar, caracterizar quimicamente e biologicamente as frações e/ou substâncias isoladas dos extratos etanólicos das espécies avaliadas neste estudo que apresentaram atividades promissoras, com o intuito de verificar se aquelas responsáveis pela atividade biológica são também as responsáveis pela citotoxicidade sobre células normais;
- 2) Identificar e avaliar frações e/ou substâncias isoladas com atividade antitumoral ampliando o número de linhagens tumorais a serem avaliadas;
- 3) Identificar e avaliar frações e/ou substâncias isoladas com atividade tripanocida sobre epimastigotas e confirmar a atividade sobre tripomastigotas e amastigotas intracelulares de *T. cruzi*;
- 4) Identificar e avaliar frações e/ou substâncias isoladas com atividade leishmanicida sobre promastigotas e, confirmar a atividade sobre amastigotas intracelulares de *L. infantum* (Cepa BH46) e *L. amazonensis* (Cepa M2269).
- 5) Identificar e avaliar frações e/ou substâncias isoladas com atividade antibacteriana e antifúngica, com o intuito de aumentar o espectro de ação, potencializar as atividades e melhorar o mecanismo de ação.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCIOLY, M. P.; BEVILAQUA, C. M. L.; RONDON, S. C. *et al.* Leishmanicidal activity in vitro of *Musa paradisiaca* L. and *Spondias mombin* L. fractions. **Veterinary parasitology**, v. 187, n. 1, p. 79-84, 2012.

ADEBESIN, O. A.; OKPUZOR, J.; IROANYA, O. O. *et al.* Antioxidant and cytotoxic properties of *Senna alata* and *Senna podocarpa* leaf extracts. **Planta Medica**, v. 79, n. 13, p. PA27, 2013.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D. *et al.* Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.

AGUIRRE-GALVIS, L. E. Phytochemical notes on *Cissampelos* spp. **Acta Biológica Colombiana**, v. 2, n. 9, p. 85-105, 1995.

ALBAKHIT, S.; KHADEM VATAN, S.; DOUDI, M. *et al.* Antileishmanial Activity of Date (*Phoenix dactylifera* L) Fruit and Pit Extracts In Vitro. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, p. 2156587216651031, 2016.

ALBERNAZ, L. C. **Atividades antiparasitárias e antifúngicas de plantas do Cerrado: *Spiranthera odoratissima* e *Diopyros hispida***. 2010. Tese (Doutorado em Ciências Médicas), Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2010.

ALBERNAZ, L. C.; PAULA, J. E.; ROMERO, G. A. S. *et al.* Investigation of plant extracts in traditional medicine of the Brazilian Cerrado against protozoans and yeasts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, n. 1, p. 116-121, 2010.

ALBUQUERQUE, M. G. M.; SILVA, M. C. R.; GUIMARÃES, T. P. *et al.* Leishmanicidal activity of the crude extract, fractions and major piperidine alkaloids from the flowers of *Senna spectabilis*. **Phytomedicine**, v. 21, n. 3, p. 277-281, 2014.

ALMEIDA, E. M. G.; RIVERO, M. G.; ADAMI, N. P. Monitoramento e avaliação dos efeitos colaterais da quimioterapia em pacientes com câncer de cólon. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 12, n. 5, p. 760-766, 2004.

ALMEIDA, G. V. **Modificação estrutural e avaliação da citotoxicidade frente a larvas de *Artemia salina* de furocumarinas isoladas de *Brosimum gaudichaudii***. TCC – Curso de Graduação em Licenciatura em Química, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos do Goytacazes, Rio de Janeiro, 2006.

ALMEIDA, M. C.; VILHENA, V.; BARRAL, A. et al. Leishmanial infection: analysis of its first steps. A review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 7, p. 861-870, 2003.

ALMEIDA, M. F. O.; MELO, A. C. R.; PINHEIRO, M. L. B. et al. Constituintes químicos e atividade leishmanicida de *Gustavia elliptica* (lecythidaceae). **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1182-1187, 2011.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M. et al. **Cerrado: aproveitamento alimentar**. Planaltina: Embrapa, 13 ed. - CPAC, 1998.

ALMEIDA, S. R. **Apostila de micologia clínica**. Faculdade Ciências Farmacêuticas Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <http://www.portalbrasil.net/downloads/micoses.pdf>>. Acesso em: 06 de abril de 2016.

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B. et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específico que interagem com o DNA: Uma introdução. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.

AL-MUSAYEIB, N. M.; MONTHANA, R. A.; AL-MASSARANI, S. et al. Study of the in vitro antiplasmodial, antileishmanial and antitrypanosomal activities of medicinal plants from Saudi Arabia. **Molecules**, v. 17, n. 10, p. 11379-11390, 2012a.

AL-MUSAYEIB, N. M.; MONTHANA, R. A.; MAUTHEEUSSEN, A. et al. In vitro antiplasmodial, antileishmanial and antitrypanosomal activities of selected medicinal plants used in the traditional Arabian Peninsular region. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 12, n. 1, p. 1, 2012b.

ALONSO-PADILHA, J.; RODRIGUEZ, A. High throughput screening for Anti-trypanosoma cruzi drug Discovery. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 12, 2014.

ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, v. 3, p. 11-15, 2001.

ALVES, M. M.; PEREIRA, A. M. S.; PEREIRA, P. S. et al. Caracterização química qualitativa de tinturas e extratos secos de plantas medicinais do Cerrado por cromatografia em camada delgada comparativa. **Scientia Plena**, v. 7, n. 12, 2011.

ALVES, R. E. E. **Investigação dos efeitos antibacteriano e citotóxico de cumarinas**. 2015. TCC (Graduação) - Curso de Graduação em Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

ALVES, R. T.; REGASINI, L. O.; FUNARI, C. S. *et al.* Trypanocidal activity of Brazilian plants against epimastigote forms from Y and Bolivia strains of *Trypanosoma cruzi*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 3, p. 528-534, 2012.

ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S. Plant extracts: search for new alternatives to treat microbial diseases. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 106-21, 2009.

ALVIANO, D. S.; BARRETO, A. L. S.; DIAS, F. A. *et al.* Conventional therapy and promising plant-derived compounds against trypanosomatid parasites. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, 2012.

AMBROZIN, A. R. P.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. *et al.* Piranoflavonas inéditas e atividades tripanocidas das substâncias isoladas de *Conchocarpus heterophyllus*. **Química Nova**, v. 31, p. 740-743, 2008.

AMORIM, L. M. F.; BURTH, P.; ROCHA, L.; *et al.* Antiproliferative activity of *Eremanthus crotonoides* extracts and centratherin demonstrated in brain tumor cell lines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 6, p. 1295-1300, 2013.

AMORIM, M. L. L. **Estudo fitoquímico e ensaios biológicos de *Pseudobrickellia brasiliensis* (Spreng.), R. M. King & H. Rob (Asteraceae)** 2012. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina/MG, 2012.

ANDRADE, C. A.; PEITZ, C.; CÚNICO, M. *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das flores de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don Leguminosae-Mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 13-15, 2005.

ANDRADE, S. F.; CARDOSO, L. G. V.; CARVALHO, J. C. T. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populonic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 464-471, 2007.

ANDRADE, S. G.; MAGALHÃES, J. B.; PONTES, A. L. Evaluation of chemotherapy with benznidazole and nifurtimox in mice infected with *Trypanosoma cruzi* strains of different types. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 63, n. 4, p. 721, 1985.

ANDRADE, S. G.; MAGALHÃES, J. B.; PONTES, A. L. Terapêutica da fase crônica da infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi* com o benzonidazol e o Nifurtimox. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 22, n. 3, p. 113-118, 1989.

ANDRADE, S. G.; RASSI, A.; MAGALHÃES, J. B. *et al.* Specific chemotherapy of Chagas disease: a comparison between the response in patients and experimental animals inoculated with the same strains. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine Hygiene**, v. 86, p. 624-626, 1992.

ANESE, S.; GRISI, P. U.; IMATOMI, M. *et al.* Fitotoxicidade de extratos etanólicos de frutos e folhas de *Banisteriopsis oxyclada* (A. Juss.) B. Gates sobre o crescimento de plantas daninhas. **Biotemas**, v. 29, n. 1, p. 1-10, 2016.

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Medicamentos/Assunto+de+Interesse/Medicamentos+fitoterapicos>> Acesso em 20 de Fevereiro de 2016a.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **MÓDULO, VII. Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf>. Acesso em: 01 de abril de 2016b.

AQUINO, F. G.; AGUIAR, L. M. S. Caracterização e conservação da biodiversidade do Bioma Cerrado. In: **FALEIRO, F. G.; SOUSA, E. S. Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o Cerrado. Embrapa Cerrados: Planaltina, DF**, p. 27-32, 2007.

AQUINO, F. G.; OLIVEIRA, M. C. **Reserva legal no Bioma Cerrado: uso e preservação**. Embrapa Cerrados: Brasília, p. 11-15, 2006.

ARASON, V. A.; KRISTINSSON, K. G.; SIGURDSSON, J. A. *et al.* Do antimicrobials increase the carriage rate of penicillin resistant pneumococci in children? Cross sectional prevalence study. **British Medical Journal**, v. 313, n. 7054, p. 387-391, 1996.

ARAUJO, C. A. C.; ALEGRIO, L. V.; LEON, L. L. *et al.* Antileishmanial activity of compounds extracted and characterized from *Centrolabium sclerophyllum*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 3, p. 751-754, 1998.

ARAÚJO, J. S. C. **Investigação dos efeitos citotóxico, genotóxico e antibacteriano dos taninos isolados de *Anacardium occidentale* Linn. e *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan em linhagens de *Streptococcus* associados ao biofilme dental.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 2013.

ARAÚJO, N. R. R. **Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre microrganismos relacionados à lesão de mucosite oral.** 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2010.

ARAUJO, S.; TEXEIRASILVA, M. F. S.; DANTAS, T. V. M. *et al.* Avaliação *in vitro* da atividade citotóxica de drogas antivirais em fibroblastos caprinos. **Ciência Animal**, v. 18, n. 1, p.25-31, 2008.

ARAYA, J. E.; NEIRA I.; SILVA, S. D. *et al.* Diterpenoids from *Azorella compacta* (Umbelliferae) active on *Trypanosoma cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 3, p. 413-418, 2003.

ARGENTA, S. C.; ARGENTA, L. C.; GIACOMELLI, S. R. *et al.* Plantas Medicinais: cultura popular versus ciência. **Revista eletrônica Vivências**, v. 7, n. 12, p. 51-60, 2011.

ARIF, T.; MANDAL, T. K.; DABUR, R. Natural products: Anti – fungal agents derived from plants. **Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry**, V. 81, p. 283 – 311, 2011.

ASANO, J.; CHIBA, K.; TABA, M. *et al.* Cytotoxic xanthenes from *Garcinia hanburyi*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 3, p. 815-820, 1996.

ASHOUR, M. L.; EL-READI, M. Z.; HAMOUD, R. *et al.* Anti-infective and cytotoxic properties of *Bupleurum marginatum*. **Chinese Medicine**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2014.

ASUZU, I. U.; CHINEME, C. N. Effects of *Morinda lucida* leaf extract on *Trypanosoma brucei* infection in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 30, n. 3, p. 307-313, 1990.

ASWATHY, P. M.; SAJ, O. P. Carminative, phytochemical and antioxidant potentialities of the leaf extracts of *Eryngium foetidum* (Apiaceae). **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, ed. 6, v. 3, 2014.

AUNG, H. H.; WANG, C. Z.; NI, M. *et al.* Crocin from *Crocus sativus* possesses significant anti-proliferation effects on human colorectal cancer cells. **Experimental Oncology**, v. 29, n. 3, p. 175, 2007.

AURICCHIO, M. T.; BUGNO, A.; BARROS, S. B. M. *et al.* Atividades antimicrobiana e antioxidante e toxicidade de *Eugenia uniflora*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 1, p. 76, 2007.

AYOKA, A. O.; AKOMOLAFE, R.; IWALEWA, E. O. *et al.* Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of *Spondias mombin* L.(Anacardiaceae) in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 2, p. 166-175, 2006.

AYOUB, I. M.; EL-SHZLY, M.; LU M. C. *et al.* Antimicrobial and cytotoxic activities of the crude extracts of *Dietes bicolor* leaves, flowers and rhizomes. **South African Journal of Botany**, v. 95, p. 97-101, 2014.

AZEREDO, C. M. O. **Efeito inibitório de óleos essenciais sobre *Trypanossoma cruzi***. 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular e Celular). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

AZEVEDO, L. F. P.; FARIA, T. S. A.; PESSANHA, F. F. *et al.* Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) Sw. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 209-215, 2014.

BADAJIDE, J. O.; MABUSELA, W. T.; GREEN, I. R.. Some alkaloids and flavonoids from *Cissampelos capensis*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 2, p. 16-29, 2015.

BADAJIDE, O. J.; MABUSELA, W. T.; GREEN, I. R. *et al.* Phytochemical screening and biological activity studies of five South African indigenous medicinal plants. **Journal of Medicinal Plants Research**, n. 4, p. 1924–1932, 2010.

BADKE, M. R.; RESSEL, L. B.; BUDÓ, M. L. D. *et al.* Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery**, v. 15, n. 1, p. 132-139, 2011.

BAKSHI, H. A.; SAM, S.; FERROZ, A. *et al.* Crocin from Kashmiri saffron (*Crocus sativus*) induces in vitro and in vivo xenograft growth inhibition of Dalton's lymphoma (DLA) in mice. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevetion**, v. 10, n. 5, p. 887-890, 2009.

BALANÑA-FOUCE, R.; REGUERA, R. M.; CUBRIA, J. C. *et al.* The Pharmacology of Leishmaniasis Gen. **Pharmacology**, v. 30, n. 4, p. 435-443, 1998.

BALDÉ, E. S.; MEGALIZZI, V.; TRAORÉ, M. S. *et al.* In vitro antiprotozoal, antimicrobial and antitumor activity of *Pavetta crassipes* K. Schum leaf extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 3, p. 529-535, 2010.

BARALDI, E.; MARI, M.; CHIERICI, E. *et al.* Studies on thiabendazole resistance of *Penicillium expansum* of pears: pathogenic fitness and genetic characterization. **Plant Pathology**, v. 52, n. 3, p. 362-370, 2003.

BARBOSA, A. P.; PALMEIRA, R. C. F.; NASCIMENTO, C. S. *et al.* Leguminosas Florestais da Amazônia Central. I. Prospecção das Classes de Compostos Presentes na Casca de Espécies Arbóreas. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 1, n. 03, p. 47-57, 2006.

BARBOSA, D. C.; SILVÉRIO, M. S.; VELOZO, L. S. M. *et al.* Antimoulting Activity of *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeisch. **EntomoBrasilis**, v. 5, n. 2, p. 106-108, 2012.

BARBOSA, F. G.; OLIVEIRA, M. C. F.; BRAZ-FILHO, R. *et al.* Anthraquinones and naphthopyrones from *Senna rugosa*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 3, p. 363-365, 2004.

BARROSO, P. R. **Fitoquímica e atividade biológicas de *Miconia ferruginta* DC. (Melastomataceae)**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina/MG, 2015.

BARUA, C. C.; BEGUM, S. A.; SATMA, D. K. *et al.* Healing efficacy of methanol extract of leaves of *Alternanthera brasiliana* Kuntze in aged wound model. **Journal of basic and clinical pharmacy**, v. 3, n. 4, p. 341, 2012.

BASILE, A.; GIORDANO, S.; LOPEZ-SAÉZ, J. A. *et al.* Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. **Phytochemistry**, v. 52, n. 8, p. 1479-1482, 1999.

BAUMGART, A. M. K. **Avaliação do potencial antimicrobiano das espécies vegetais *Cipura paludosa* e *Chenopodium ambrosioides***. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2014.

BEER, M. F.; FRANK, F. M.; GERMÁN, E. O. *et al.* Trypanocidal and leishmanicidal activities of flavonoids isolated from *Stevia satureiifolia* var. *satueiifolia*. **Pharmaceutical Biology**, p. 1-8, 2016.

BEHLING, E. V.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C. *et al.* Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2008.

BELTRAME, R. E.; SILVA-FILHO, C. R.; TANAKA, I. I. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*-antibioticoterapia e perfil de resistência de cepas isoladas das UTIs dos Hospitais da Faculdade de Medicina de Marília. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 56, n. 11, p. 1132-44, 1999.

BERGER, I.; BARRIENTOS, A. C.; CÁCERES, A. *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections: II. Activity of extracts and fractions of five Guatemalan plants against *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, n. 2, p. 107-115, 1998.

BERGOLD, A. M. A.; GEORGIADIS, S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 2, 2004.

BERMAN, J. D. Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy, and future strategies. **Reviews of Infectious Diseases**, v.10, p. 560-86, 1988.

BERMAN, J. D. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, p. 684-703, 1997.

BEZERRA, J. L.; COSTA, G. C.; LOPES, T. C. *et al.* Evaluation of the in vitro leishmanicidal activity of medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 631-637, 2006.

BIASI, B.; GRAZZIOTIN, N. A.; HOFMANN JÚNIOR, A. E. Atividade antimicrobiana dos extratos de folhas e ramos da *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2b, p. 582-585, 2009.

BIELLA, C. A.; SALVADOR, M. J.; DIAS, D. A. *et al.* Evaluation of immunomodulatory and anti-inflammatory effects and phytochemical screening of *Alternanthera tenella* Colla (Amaranthaceae) aqueous extracts. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 6, p. 569-577, 2008.

BODEY, G. P.; BOLIVAR, R.; FAINSTEIN, V. *et al.* Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. **Review of Infectious Diseases**, v. 5, n. 2, p. 279-313, 1983.

BOECK, P.; FALCÃO, C. A. B.; LEAL, P. C. *et al.* Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 5, p. 1538-1545, 2006.

BOGUCKA-KOCKA, A.; SMOLARZ, H. D.; KOCKI, J. Apoptotic activities of ethanol extracts from some Apiaceae on human leukaemia cell lines. **Fitoterapia**, v. 79, n. 7, p. 487-497, 2008.

BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; KING, R. M. *et al.* Sesquiterpene lactones from *Eremanthus* species. *Phytochemistry*, v. 19, n. 12, p. 2663-2668, 1980.

BOTREL, R. T.; RODRIGUES, L. A.; GOMES, L. J. *et al.* Uso da vegetação nativa pela população local no município de Ingaí, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 143-156, 2006.

BRAGA, W. V.; LOPES, A. C. F.; MANTOANE, D. C. P.; *et al.* Análise Fitoquímica Preliminar de Metabólitos Secundários Presentes em *Schinus terebinthifolia* R. (Aroeira). In: **VI ENIC - Encontro Nacional de Iniciação Científica - Faminas da Zona da Mata - MG, 2009, Muriaé. Revista Científica da FAMINAS. Muriaé - MG: Faminas**, v. 6, 2009.

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D. *et al.* Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010.

BRAOLOS, A.; TURATTI, T.F.; MEREDIJA, L.C.S. *et al.* Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, vol. 45, n. 6, pag. 449-456, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de Microbiologia Clínica para Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 6** : Detecção e identificação de bactérias de importância médica. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013.

BRASIL. Instituto Nacional do Câncer (INCA). ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer. Instituto Nacional do Câncer, Rio de Janeiro, 128 p., 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde/Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica ; n. 31), Brasília-DF, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006b.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde**, 812 p, 2014b.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014. Anexo I - **Lista Nacional Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção**, Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, p.110-30, 2014a.

BRASIL. **Portal da Saúde. Ministério da Saúde** (2014b). Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/646-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/doenca-de-chagas/11114-informacoes-tecnicas-chagas>>. Acesso em: 22 de março de 2016.

BRAVO L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, p. 317-33, 1998.

BRENER, Z. Pathogenesis and immunopathology of chronic Chagas' disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 205-213, 1987.

BRENZAN, M. A.; NAKAMURA, C. V.; DIAS-FILHO, B. P. *et al.* Antileishmanial activity of crude extract and coumarin from *Calophyllum brasiliense* leaves against *Leishmania amazonensis*. **Parasitology Research**, v. 101, n. 3, p. 715-722, 2007.

BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. **Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 25^a ed. São Paulo: Artmed Editora, p. 813, 2012.

BROWN, P. D.; IZUNDU, A. Antibiotic resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Jamaica. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 16, n. 2, p. 125-130, 2004.

BRUNETON, J. **Farmacognosia: fitoquímica de plantas medicinais**. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 2001.

BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. Goodman & Gilman: **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12^a ed. Rio de Janeiro, Editora: McGraw-Hill, Capítulo 60, 2012.

BRYCESON, A. A policy for leishmaniasis with respect to the prevention and control of drug resistance. **Tropical Medicine & International Health**, v. 6, n. 11, p. 928-934, 2001.

BURKE, R. W.; DIAMONDSTONE, B. I.; VELAPOLDI, L. A. *et al.* Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak color reactions for cholesterol. **Clinical Chemistry**, v. 20, n. 7, p. 794-801, 1974.

BUSSMANN, R. W.; ASHLEY, G.; SHARON, D. *et al.* Proving that traditional knowledge works: the antibacterial activity of Northern Peruvian medicinal plants. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 9, p. 067-096, 2010.

BUSTAMANTE, C. I. Treatment of *Candida* infection: a view from the trenches!. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 18, n. 6, p. 490-495, 2005.

BUSTAMANTE, K. G. L.; LIMA, A. D. F.; SOARES, M. L. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel), Fabaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 3, p. 341-345, 2010.

CAILLEAU, R.; YOUNG, R.; OLIVE, M. *et al.* Breast tumor cell lines from pleural effusions. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 53, n. 3, p. 661-74, 1974.

CALDERONE, R. A.; FONZI, W. A. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends in microbiology**, v. 9, n. 7, p. 327-335, 2001.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3, p. 37-39, 2003.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA JUNIOR, J. M. Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: desafios. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78, n. 1, 2008.

CALLEJON, D. R.; RIUL, T. B.; FEITOSA, L. G. *et al.* Leishmanicidal evaluation of tetrahydroprotoberberine and spirocyclic erythrina-alkaloids. **Molecules**, v. 19, n. 5, p. 5692-5703, 2014.

CAMACHO, M. R.; KIRBY, G. C.; WARHURST, D. C. *et al.* Oxoaporphine alkaloids and quinones from *Stephania dinklagei* and evaluation of their antiprotozoal activities. **Planta Medica**, v. 66, n. 5, p. 478-480, 2000.

CAMACHO, M. R.; PHILLIPSON, J. D.; CROFT, S. L. *et al.* *In vitro* activity of *Triclisia patens* and some bisbenzylisoquinoline alkaloids against *Leishmania donovani* and *Trypanosoma brucei brucei*. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 5, p. 432-436, 2002a.

CAMACHO, R. M.; PHILLIPSON, J. D.; CROFTS, L. *et al.* Assessment of the Antiprotozoal Activity of *Galphimia glauca* and the Isolation of New Nor-secofriedelanes and Nor-friedelanes. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 10, p. 1457-1461, 2002b.

CAMPOS, F. M. F.; LIARTE, D. B.; MORTARA, R. A. *et al.* Characterization of a gene encoding alcohol dehydrogenase in benznidazole-susceptible and-resistant populations of *Trypanosoma cruzi*. **Acta Tropica**, vol. 111, pag. 56–63, 2009.

CAO, S.; GUZA, R. C.; MILLER, J. S. *et al.* Cytotoxic Triterpenoids from *Acridocarpus vivy* from the Madagascar Rain Forest 1. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 6, p. 986-989, 2004.

CÁRDENAS, M.; MARDER, M.; BLANK, V. C. *et al.* Antitumor activity of some natural flavonoids and synthetic derivatives on various human and murine cancer cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 9, p. 2966-2971, 2006.

CARDOSO, C. A. L.; SALMAZZO, G. R.; HONDA, N. K. *et al.* Antimicrobial activity of the extracts and fractions of hexanic fruits of *Campomanesia* species (Myrtaceae). **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 5, p. 1273-1276, 2010.

CARDOSO, G. C.; PEREIRA, N. A.; LAINETTI, R.. Avaliação das atividades antinociceptiva, antiinflamatória e diurética de chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*, [Cham. e Schl.] Mitch. Alismataceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 84, p. 5-7, 2003.

CARLOS, I. Z.; LOPES, F. C. M.; BENZATTI, F. P. *et al.* Ação do extrato metanólico e etanólico de *Davilla elliptica* St. Hill.(Malpighiaceae) na resposta imune. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 44-50, 2005.

CARVALHO, A. F.; SILVA, D. M.; SILVA, T. R. C. *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 521-526, 2014.

CARVALHO, F. J. W.; ZERINGOTA, R. G. Tratamento da infecção não complicada do trato urinário. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 31, n. 2, p. 52-6, 2005.

CARVALHO, P. B.; FERREIRA, E. I. Leishmaniasis phytotherapy. Nature's leadership against an ancient disease. **Fitoterapia**, v. 72, n. 6, p. 599-618, 2001.

CASTILLO, F.; AGUILAR, C. N.; HERNANDEZ, D. *et al.* Antifungal properties of bioactive compounds from plants. **INTECH Open Access Publisher**, 2012.

CAVALCANTI, A. C.; GOMES, A. N. P.; PORTO, N. M. *et al.* Pharmacognostic evaluation of *Cissampelos sympodialis* Eichl leaves. **South African Journal of Botany**, v. 93, p. 70-78, 2014.

CAVALCANTI, Y. W.; PÉREZ, A. L. A. L.; XAVIER, G. D. R. *et al.* Atividade antifúngica de extratos vegetais brasileiros sobre cepas de *Candida*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 16, n. 1, p. 43-48, 2012.

CAVALEIRO, C.; GONÇALVES, M. J.; SERRA, D. *et al.* Composition of a volatile extract of *Eryngium duriaei* subsp. *juresianum* (M. Laínz) M. Laínz, signalised by the antifungal activity. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, n. 3, p. 619-622, 2011.

CECÍLIO, A. B.; FARIA, D. B.; OLIVEIRA, P. C. *et al.* Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, p. 975-981, 2012.

CHAGAS, C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo de *Schizotrypanum cruzi* n.sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.1, p. 159-218, 1909.

CHAHAR, M. K.; SHARMA, M.; DOBHAR, M. P. *et al.* Flavonoids: a versatile source of anticancer drugs. **Pharmacognosy Reviews**, v. 5, n. 9, p. 1, 2011.

CHANG, A.; CAI, Z.; WANG, Z. *et al.* Extraction and isolation of alkaloids of *Sophora alopecuroides* and their anti-tumor effects in H22 tumor-bearing mice. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 11, n. 2, p. 245-248, 2014.

CHONG, Y.; SHIMODA, S.; YAKUSHIJI, H. *et al.* Fatal candidemia caused by azole-resistant *Candida tropicalis* in patients with hematological malignancies. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 18, n. 5, p. 741-746, 2012.

CHOUDHARY, M. I.; NUR-E-ALAM, M.; *et al.* Four new flavones and a new isoflavone from *Iris bungei*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 7, p. 857-860, 2001.

CHRUSCIAK-TALHARI, A.; DIETZE, R.; CHRUSCIAK-TALHARI, C. *et al.* Randomized controlled clinical trial to assess efficacy and safety of miltefosine in the treatment of cutaneous Leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) guyanensis* in Manaus, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, n. 2, p. 552-260, 2011.

CHUKEATIROTE, E.; HANPATTANAKIT, P.; KAPROM, A. *et al.* Antimicrobial activity of *Senna spectabilis* and *S. tora*. **Journal Plant Sciences**, v. 2, p. 123-126, 2007.

CHUNG, K. T.; WEI, C. I.; JOHNSON, M. G. Are tannins a double-edged sword in biology and health?. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, n. 4, p. 168-175, 1998.

COIMBRA, M. C.; JORGE, N. Characterization of the pulp and kernel oils from *Syagrus oleracea*, *Syagrus romanzoffiana*, and *Acrocomia aculeata*. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 8, p. C1156-C1161, 2011.

COLARES, A. V.; ALMEIDA-SOUZA, T.; TANIWAKI, N. N. *et al.* In vitro antileishmanial activity of essential oil of *Vanillosmopsis arborea* (Asteraceae) baker. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 5, p. 599-607, 2003.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T.; CAMARGO, L. F. A. *et al.* Brazilian guidelines for the management of candidiasis: a joint meeting report of three medical societies–Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia, Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, p. S1-S34, 2012.

CONVIT, J.; CASTELLANOS, P.F.; ULRICH, M. *et al.* Immunotherapy of localized, intermediate and diffuse forms of american cutaneous leishmaniasis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 160, p. 104-115, 1989.

CORREIA, A. F. **Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas do Cerrado Brasileiro sobre isolados clínicos de *Candida* spp.** 2016. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2016.

COSTA, F. B. **Farmacognosia: Práticas de Laboratório.** Departamento de Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, 2012.

COSTA, G. A. F.; MORAS, M. G.; OLIVEIRA, G. T. *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico e das frações obtidas das folhas de *Solanum* sp. frente à

bactéria gram positiva meticilina-resistente *Staphylococcus aureus*. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 2esp, p. 117-119, 2013a.

COSTA, J. M. L.; SALDANHA, A. C. R.; SILVA, A. C. M. *et al.* Estado atual da Leishmaniose cutânea difusa (LCD) no estado do Maranhão. II. Aspectos edpidemiol[ogicos, clínico-evolutivos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 25, n. 2, p. 115-123, 1992.

COSTA, M.; TAVARES, V.; AQUINO, M. V. *et al.* **Doença de Chagas: Uma revisão Bibliográfica**. REFACER-Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres, v. 2, n. 1, 2013b.

COUDRON, P. E.; MOLAND, E. S.; THOMSON, K. S. Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* isolates at a veterans medical center. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 5, p. 1791-1796, 2000.

COURA, J. R. Chagas disease: what is known and wath is needed - a background article. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102 (Supl. I), p. 113-122, 2007.

COURA, J. R. Síntese histórica e evolução dos conhecimentos sobre a doença de Chagas. In: **Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral**. Fiocruz, p. 469-86, 1997.

COURA, J. R.; CASTRO, S. L. A critical review on Chagas disease chemotherapy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 1, p. 3-24, 2002.

COUTINHO, I. D.; CARDOSO, C. A. L., RÉ-POPPI, N. *et al.* Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Guavira). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 4, p. 767-776, 2009.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acidsa. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 854, n. 1, p. 435-442, 1998.

CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis—current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends in parasitology**, v. 19, n. 11, p. 502-508, 2003.

CRUZ, E. M.; SIILVA, E. R.; CARMO, M. C. *et al.* Leishmanicidal activity of *Cecropia pachystachya* flavonoids: Arginase inhibition and altered mitochondrial DNA arrangement. **Phytochemistry**, v. 89, p. 71-77, 2013.

CUNA, W R.; VELASQUEZ, R.; RIVA, J. *et al.* Enhancement of a T H 1 immune response in amphotericin B-treated mucocutaneous leishmaniasis. **BioMed Research International**, v. 2007, 2007.

CUNHA, W. R.; SANTOS, F. M.; PEIXOTO, J. A. *et al.* Evaluation of the in vitro trypanocidal activity of plant extracts from the Brazilian Cerrado. **Planta Medica**, v. 75, n. 09, p. PD6, 2009.

CUNHA, W. R.; SILVA, M. C. A.; TURATTI, I. C. C. *et al.* Avaliação da atividade analgésica de *Miconia ligustroides* (Melastomataceae) utilizando o teste de contorção abdominal em camundongos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 84, p. 47-49, 2003.

CUTLER, J. E. Putative virulence factors of *Candida albicans*. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 187-218, 1991.

DANELLI, M. G. M.; SOARES, D. C.; ABREU, H. S. *et al.* Leishmanicidal effect of LLD-3 (1), a nor-triterpene isolated from *Lophanthera lactescens*. **Phytochemistry**, v. 70, n. 5, p. 608-614, 2009.

DAVID, J. P.; MEIRA, M.; DAVID, J. M. *et al.* Triterpenos e ferulatos de alquila de *Maprounea guianensis*. **Quimica Nova**, v. 27, n. 1, p. 62-65, 2004.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 27, n. 5, p. 305-318, 2004.

DESOTI, V. C.; MALDANER, C. L.; CARLETTO, M. S. *et al.* Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR**, v. 15, n. 1, 2011.

DEUS, R. J.A.; ALVES, C. N.; ARRUDA, M. S. P. *et al.* Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 1-7, 2011.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach**. 2nd Edition. John Wiley & Sons, Ltd. Capítulo 5, 167-289. 2002.

DHANYA, S.; KUMAR, N. V. A.; NAYAK, A. S. *et al.* Cytotoxicity studies of microwave assisted natural products extracts in HeLa and MCF-7 cell lines. **International Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, v. 3, n. 1, p. 27-31, 2013.

DIAS, C. N.; RODRIGUES, K. A.; CARVALHO, F. A. *et al.* Molluscicidal and leishmanicidal activity of the leaf essential oil of *Syzygium cumini* (L.) SKEELS from Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, n. 6, p. 1133-1141, 2013.

DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. org. **Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral [online]**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 486 p., 1997.

DIAS, J. F. G.; VIRTUOSO, S.; DAVET, A. *et al.* Atividade antibacteriana e antifúngica de extratos etanólicos de *Aster lanceolatus* Willd., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 83-87, 2006.

DIAS, L. C.; DESSOY, M. A.; SILVA, J. J. N. *et al.* Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2444-2457, 2009.

DIGNANI, M. C.; SOLOMKIN, J. S.; ANAISSIE, E. Candida. **In: ANAISSIE, E.; MCGINNIS, M. R.; PFALLER, M. A. (eds.) Medical Mycology**. Filadélfia, Churchill Livingstone, p. 195-239, 2003.

DINGES, M. M.; ORWIN, P. I. M.; SCHLIEVERT, P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 1, p. 1-34, 2000.

DINIZ, D. N.; MACÊDO-COSTA, M. R.; PEREIRA, M. S. V. *et al.* Efeito antifúngico in vitro do extrato da folha e do caule de *Myrciaria cauliflora* berg. sobre microrganismos orais. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 39, n. 3, p. 151-156, 2010.

DOSS, A.; MUBARACK, H. M.; DHANABALAN, R. Antibacterial activity of tannins from the leaves of *Solanum trilobatum* Linn. **Indian Journal of science and Technology**, v. 2, n. 2, p. 41-43, 2009.

DOSTAL, R. E.; SEALE, J. P.; YAN, B. J. Resistance to ciprofloxacin of respiratory pathogens in patients with cystic fibrosis. **The Medical journal of Australia**, v. 156, n. 1, p. 20-24, 1992.

DOUGHARI, J. H.; EL-MAHMOOD, A. M.; TYOYINA, I. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Senna obtusifolia* (L). **African Journal Pharmacy Pharmacology**, v. 2, n. 1, p. 7-13, 2008.

DRUMMOND, G. M.; MARTINS, C. S.; MACHADO, A. B. M. *et al.* **Biodiversidade em Minas Gerais: atlas para sua conservação**. 2º Edição. Fundação Biodiversitas, p. 222, 2005.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, v. 7, p. 17, 2006.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A. *et al.* Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 305-311, 2005.

DUFRESNE, C. J.; FARNWORTH, E. R. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 12, n. 7, p. 404-421, 2001.

DUTRA, R. C.; TAVARES, C. Z.; FERRAZ, S. O. *et al.* Investigation of analgesic and anti-inflammatory activities of *Echinodorus grandiflorus* rizhomes methanol extract. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, n.4, 2006.

DUTTA, A.; BANDYOPADHYAY, S.; MANDAL, C. *et al.* Development of a modified MTT assay for screening antimonial resistant field isolates of Indian visceral leishmaniasis. **Parasitology International**, v. 54, p.119-22, 2005.

EBERHARDT, G. N. **Atividade antioxidante, antidiabética e antimicrobiana de *Senna rugosa* (G. Don) H. S. Irwin & Barneby (1982) e *Senna velutina* (Vogel) H. S. Irwin & Barneby (1982)**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal da Grande Dourados, 2012.

EKEANYANWU, R. C.; UDEME, A. A.; ONUIGBO, A. O. *et al.* Anti-diabetic effect of ethanol leaf extract of *Cissampelos owariensis* (lungwort) on alloxan induced diabetic rats. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 25, p. 6758-6762, 2014.

ELKAMOUNI, Y.; LMIMOUNI, B.; DOGHMI, K. *al.* Candidémie à *Candida famata* chez un patient immunodéprimé: à propos d'un cas et revue de littérature. **In: Annales de Biologie Clinique**, p. 609-611, 2011.

ERDEM, S. A.; MITAINE-OFFER, A. C.; MIYAMOTO, T. *et al.* Triterpene saponins from *Eryngium kotschyi*. **Phytochemistry**, v. 110, p. 160-165, 2015a.

ERDEM, S. A.; NABAVI, S. F.; ORHAN, I. E. *et al.* Blessings in disguise: a review of phytochemical composition and antimicrobial activity of plants belonging to the genus *Eryngium*. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 1, 2015b.

ERDEMOGLU, N.; OZKAN, S.; TOSUN, F. Alkaloid profile and antimicrobial activity of *Lupinus angustifolius* L. alkaloid extract. **Phytochemistry Reviews**, v. 6, n. 1, p. 197-201, 2007.

ESCRIBANO, J.; ALONSO, G. L.; COCA-PRADOS, M. *et al.* Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. **Cancer Letters**, v. 100, n. 1, p. 23-30, 1996.

ESMAEILI, S.; IRANI, M.; ZEHAN, H. M. *et al.* Cytotoxic activity of some ethnic medicinal plants from southwest of Iran. **Research Journal of Pharmacognosy (RJP)**, v. 3, n. 1, p. 43-47, 2016.

ESSIEN, E. E.; WALKER, T. M.; OGUNWANDE, I. A. *et al.* Volatile constituents, antimicrobial and cytotoxicity potentials of three *Senna* species from Nigeria. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 14, n. 6, p. 722-730, 2011.

FABRI, R. L.; COIMBRA, E. S.; ALMEIDA, A. C. *et al.* Essential oil of *Mitracarpus frigidus* as a potent source of bioactive compounds. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 4, p. 1073-1080, 2012.

FANG, J. B.; YAO, Z.; CHEN, J. C. *et al.* Cytotoxic triterpene saponins from *Alternanthera philoxeroides*. **Journal of Asian natural Products Research**, v. 11, n. 3, p. 261-266, 2009b.

FANG, J.; CHEN, J.; LIU, Y. *et al.* [Constituents from *Alternanthera philoxeroides* and their antitumor activity]. **Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica**, v. 34, n. 19, p. 2473-2476, 2009a.

FARIAS, D. F.; CAVALHEIRO, M. G.; VIANA, M. P. *et al.* Water extracts of Brazilian leguminous seeds as rich sources of larvicidal compounds against *Aedes aegypti* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, n. 3, p. 585-594, 2010.

FEDERICI, E. E.; ABELMANN, W. B.; NEVA, F. A. Chronic Progressive myocarditis and myositis in C3H mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 13, p. 272-280, 1964.

FEIZZADEH, B.; TAVAKKOL, J. A.; RAKHSHANDEH, H. *et al.* Cytotoxic effect of saffron stigma aqueous extract on human transitional cell carcinoma and mouse fibroblast. **Urology Journal**, v. 5, n. 3, p. 161-167, 2008.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A. *et al.* Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Brazilian Journal Pharmaceutical Science**, v. 42, p. 369-394, 2006.

FERDINANDI, D. M.; FERREIRA, A. A. Agentes alquilantes: reações adversas e complicações hematológicas. **Artigos Científicos e Tecnologia Científica**, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2009.

FERNANDES, T. A.; PEREIRA, C. A. P.; PETRILI, A. S. *et al.* Caracterização molecular de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenêmicos e produtoras de metalo- β -lactamase isoladas em hemoculturas de crianças e adolescentes com câncer. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 4, p. 372-6, 2010.

FERNANDES, T. O.; ÁVILA, R. I.; MOURA, S. S. *et al.* *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) fruits protect HEPG2 cells against carbon tetrachloride-induced toxicity. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 184-193, 2015.

FERNANDÉZ-RUIZ, M.; PUIG-ASENSIO, M.; GUINEA, J. *ET AL.* *Candida tropicalis* bloodstream infection: Incidence, risk factors and outcome in a population-based surveillance. **Journal of Infection**, v. 71, n. 3, p. 385-394, 2015.

FERREIRA, H. D. E. O. Treatment of the undetermined form of Chagas disease with nifortimox and benzonidazole. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 23, n. 4, p. 209-211, 1990.

FERREIRA, L. C.; GRABE-GUIMARÃES, A.; PAULA, C. A. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Campomanesia adamantium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.145,n.1,p.100-108,2013.

FERREIRA, M. E.; ARIAS, A. R.; YALUFF, G. *et al.* Antileishmanial activity of furoquinolines and coumarins from *Helietta apiculata*. **Phytomedicine**, v. 17, n. 5, p. 375-378, 2010.

FERRONATTO, R.; MARCHESAN, E. D.; PEZENTI, E. *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* DC e *Baccharis uncinella* DC (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 224-230, 2007.

FIDOCK, D. A.; ROSENTHAL, P. J.; CROFT, S. L.. Antimalarial drug discovery: efficacy models for compound screening. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 6, p. 509-520, 2004.

FIGUEIREDO, U. S. **Química de *Acosmium dasycarpum*: identificação de alcalóides quinolizidínicos por CG-EM**. 2010. Tese (Doutorado em Química Orgânica). Universidade Federal de São Carlos, 2009.

FIGUEREDO, F. G.; TINTINO, S. R.; BRITO, D. I. V. *et al.* Avaliação das potenciais atividades tripanocida e antileishmania do extrato de folhas de *Piper arboreum* (Piperaceae) e de suas frações. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 1, p. 149-154, 2014.

FILARDI, L. S.; BRENER, Z. Susceptibility and natural resistance of *Trypanosoma cruzi* strains to drugs used clinically in Chagas disease. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, n. 5, p. 755-759, 1987.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. 2013. Doença de Chagas. Disponível em: <<https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7a-de-chagas>>. Acesso em: 27 de Junho de 2016.

FIRMO, W. C. A.; MENEZES, V. J. M.; PASSOS, C. E. C. *et al.* Historical context, popular use and scientific conception on medicinal plants. **Caderno de Pesquisa**, v. 18, p. 90-5, 2011.

FISCHER, D. C. H.; AMORIM, G. N. C.; BACHIEGA, D. *et al.* In vitro screening for antiplasmodial activity of isoquinoline alkaloids from Brazilian plant species. **Acta Tropica**, v. 92, n. 3, p. 261-266, 2004.

FOKIALAKIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; TEKWANI, B. L. *et al.* Evaluation of the antimalarial and antileishmanial activity of plants from the Greek island of Crete. **Journal of Natural Medicines**, v. 61, p. 38–45, 2007.

FONG, H. H. S.; BHATTI, W.; FARNSWORTH, N. R. Antitumor activity of certain plants due to tannins. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 61, n. 11, p. 1818-1818, 1972.

FONSECA, J. F.; BOTELHO, A. C. F. Atividade antifúngica do extrato de folhas de *Psidium guajava* sobre leveduras do gênero *Candida*. **Revista da Faculdade de Odontologia de Porto Alegre**, v. 51, n. 1, p. 24-26, 2010.

FRANCA, M. G. A.; LIMA, D. R.; PAIVA, C. F. *et al.* Prospecção de metabólitos especiais e avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* de extratos etanólicos de folhas e galhos da catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* tull., Fabaceae) coleta em Tauá-CE. In: **65ª Reunião Anual da SBPC**, 2013.

FRANCIS, G.; KEREM, Z.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. **British Journal of Nutrition**, v.88, p. 587–605, 2002.

FRANK, F. M.; ULLOA, J.; CAZORLA, S. I. *et al.* Trypanocidal activity of *Smallanthus sonchifolius*: identification of active sesquiterpene lactones by bioassay-guided fractionation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

FREITAS, B. A. **Análise da composição química, atividade citotóxica e inibição de citocinas *in vitro* de preparações de partes aéreas da planta *Ageratum fastigiatum***. 2013. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina/MG, 2013.

FREITAS, L. B. O. **Estudo fitoquímico e da atividade biológica de *Banisteriopsis anisandra* (A. Juss) B. Gates e síntese de amidas indólicas para avaliação da atividade alelopática**. 2010. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG, 2010.

FREITAS, L. B. O.; BOAVENTURA, M. A. D., SANTOS, W. L. *et al.* Allelopathic, cytotoxic and antifungic activities of new dihydrophenanthrenes and other constituents of leaves and roots extracts of *Banisteriopsis anisandra* (Malpighiaceae). **Phytochemistry Letters**, v. 12, p. 9-16, 2015.

FRIAS, D. F. R.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I. Verificação da atividade antifúngica de extratos e óleo de eucalipto no controle *in vitro* de *Aspergillus niger*. **CES Medicina Veterinaria & Zootecnica**, v. 4, n. 2, 2009.

FUCHINO, H.; SEKKITA, S.; MORI, K. *et al.* A new leishmanicidal saponin from *Brunfelsia grandiflora*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 56, n. 1, p. 93-96, 2008.

FUENTEFRÍA, D. B.; FERREIRA, A. E.; GRAF, T. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 5, p. 470-473, 2008.

FUJIWARA, G. M. **Microencapsulação de estigmasterol utilizando alginato de sódio, quitosana e amido**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

GARCIA, C. S.; UEDA, S. M. Y.; MIMICA, L. M. J. Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos hidroetanólicos de plantas sobre *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 4, p. 589-598, 2011.

GARCIA, M.; MONZOTE, L.; SCULL, R. *et al.* Activity of Cuban Plants Extracts against *Leishmania amazonensis*. **International Scholarly Research Network Pharmacology**, v. 2012, 2012.

GARCÍA-SOSA, K.; VILLARREAL-ALVAREZ, N.; LUBBEN, P. *et al.* Chrysophanol, an antimicrobial anthraquinone from the root extract of *Colubrina greggii*. **Journal of Mexican Chemical Society**, v. 50, n. 2, p. 76-78, 2006.

GEORGE, A. J. Legal status and toxicity of saponins. **Food and Cosmetics Toxicology**, v. 3, p. 85-91, 1965.

GEORGE, S.; BHALERAO, S. V.; LIDSTONE, E. A. *et al.* Cytotoxicity screening of Bangladeshi medicinal plant extracts on pancreatic cancer cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, n. 1, p. 1, 2010.

GIANOTTI, A. R. C.; SOUZA, M. J. H.; MACHADO, E. L. M. *et al.* Análise microclimática em duas fitosisionamias do Cerrado no alto Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 28, n. 3, p. 246 - 256, 2013.

GIL, E. S.; PAULA, J. R.; NASCIMENTO, F. R. F. *et al.* Produtos naturais com potencial leishmanicida. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 3, p. 223-230, 2008.

GIOLO, M. P.; SVIDZINSKI, T. I. E.. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 3, p. 225-234, 2010.

GIORGETTI, M.; ROSSI, L.; RODRIGUES, E. Brazilian plants with possible action on the Central Nervous System: a study of historical sources from the 16th to 19th century. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 3, p. 537-555, 2011.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GOEL, A. K.; KULSHRESHTHA, D. K.; DUBEY, M. P. *et al.* Screening of Indian plants for biological activity*: **Part XVI. Indian Journal of Experimental Biology**, v. 40, p. 812-827, 2002.

GOHARI, A. R.; SAEIDNIA, S.; MATUSO, K. *et al.* Flavonoid constituents of *Dracocephalum kotschy* growing in Iran and their trypanocidal activity. **Natural Medicine**, v. 57, n. 6, p. 250-252, 2003.

GOLAN, D. E.; TASHJIAN JR, A. H.; ARMSTRONG, E. J. *et al.* **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

GÓMEZ, J.; GARCÍA-VÁZQUEZ, E.; HERNÁNDEZ, A.; ESPINOSA, C.; RUIZ, J. Nosocomial candidemia: new challenges of an emergent problem. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 23, p. 158-68, 2010.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

GONÇALVES, G. F. **Avaliação das atividades citotóxica e genotóxica de taninos de *Mimosa arenosa* (Willd.) Poir. (Mimosaceae).** 2011. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L. R. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, n. 36, p. 71-80, 2003.

GORINSKY, C. **The isolation and characterisation of biologically active constituents from *Cissampelos ovalifolia*, DC and *Clibadium sylvestre* (Aubl.) Baill.** 1974. Tese de Doutorado. Queen Mary, University of London, 1973.

GOULART, M. E. A.; PEREIRA, C. S. B.; MARCHRY, L. *et al.* *Staphylococcus aureus* isolado de swab nasal em um hospital militar. **Revista de Saúde**, v. 6, n. 1, p. 05-09, 2015.

GRECCO, S. S.; REIMÃO, J. Q.; TEMPONE, A. C. *et al.* In vitro antileishmanial and antitrypanosomal activities of flavanones from *Baccharis retusa* DC.(Asteraceae). **Experimental Parasitology**, v. 130, n. 2, p. 141-145, 2012.

GRITSANAPAN, W.; WUTHI-UDOMLERT, M.; TRIDEJ, M. *et al.* Antifungal activity of anthraquinones from *Cassia alata* growing Thailand. **Polyphenols, Wine and Health Communications**, 1999.

GU, M.; XU, J.; HAN, C. *et al.* Effects of berberine on cell cycle, DNA, reactive oxygen species, and apoptosis in L929 murine fibroblast cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

GUARIM-NETO, C.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado do Mato Grosso: Um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasilica**, v. 17. n. 4, p. 561-584, 2003.

GUERIN, P. J.; OLLIARO, P.; SUNDAR, S. *et al.* Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 2, n. 8, p. 494-501, 2002.

GUGNANI, H. C.; GUPTA, S.; TALWAR, R. S. Role of opportunistic fungi in ocular infections in Nigeria. **Mycopathologia**, v. 65, n. 1-3, p. 155-166, 1978.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. D. S.; PUPO, M. t. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, p. 1-93, 2006.

GUZEL, A. B.; AYDIN, M.; MERAL, M. *et al.* Clinical characteristics of Turkish women with *Candida krusei* vaginitis and antifungal susceptibility of the *C. krusei* isolates. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, v. 2013, 2013.

HALDAR, A. K.; SEM, P.; ROY, S. Use of antimony in the treatment of leishmaniasis: Current status and future directions. **Molecular Biology International**, v. 2011, 2011.

HENRIQUES, A. T.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCKENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTEZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2 ed. Florianópolis: UFSC, p.641-56, 2000.

HIANE, P. A.; BALDASSO, P. A.; MARANGONI, S. *et al.* Chemical and nutritional evaluation of kernels of bocaiuva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 26, n. 3, p. 683-689, 2006.

HIRSCHMANN, G. S.; ARIAS, A. R.. A survey of medicinal plants of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, n. 2, p. 159-172, 1990.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R. *et al.* Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOU, Y.; CAO, S.; BRODIE, P. *et al.* Antiproliferative Cassane Diterpenoids of *Cordyla madagascariensis* ssp. *madagascariensis* from the Madagascar Rainforest (1). **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 1, p. 150-152, 2007.

HOWARD, S. J.; HARRISON, E.; BOWYER, P. *et al.* Cryptic species and azole resistance in the *Aspergillus niger* complex. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 10, p. 4802-4809, 2011.

HUSSAIN, S.; HAQ, A.; NISAR, M. *et al.* Evaluation of in-vitro anti-mycobacterial activity and isolation of active constituents from *Crocus sativus* L.(Iridaceae). **Asian Journal of Medical and Pharmaceutical Researches**, v. 4, n. 2, p. 130-135, 2014.

HUSSEIN, F.; HAWRAA, M.; AKRAM, H. *et al.* Antioxidant, cytotoxic properties and phytochemical screening of two Lebanese medicinal plants. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 4, n. 5, 2013.

IBRAHIM, M. A.; ALIYU, A. B.; BASHIR, M. *et al.* *Senna occidentalis* leaf extract possesses antitrypanosomal activity and ameliorates the trypanosome-induced anemia and organ damage. **Pharmacognosy Research**, v. 2, n. 3, p. 175-180, 2010.

IFESAN, B. O. T.; IBRAHIM, D.; VORAVUTHIKUNCHAI, S. P *et al.* Antimicrobial activity of crude ethanolic extract from *Eleutherine americana*. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 8, n. 3&4, p. 1233, 2010.

IHA, O. K.; ALVES, F. C. S. C.; SUAREZ, P. A. Z. *et al.* Physicochemical properties of *Syagrus coronata* and *Acrocomia aculeata* oils for biofuel production. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 318-322, 2014.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. **Câncer**. 2016a. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 29 de março de 2016a.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. **Incidência de câncer no Brasil**. 2016b. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/index.asp?ID=2>>. Acesso em: 29 de março de 2016b.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. **Quimioterapia**. 2016c. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=101>. Acesso em: 29 de março de 2016c.

INDAP, M. A.; RADHIKA, S.; MOTIWALE, L. *et al.* Quercetin: antitumor activity and pharmacological manipulations for increased therapeutic gains. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 68, n. 4, p. 465, 2006.

ISHIDA, K.; ROZENTAL, S.; MELLO, J. C. P. *et al.* Activity of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on *Cryptococcus neoformans*: effects on growth, capsule size

and pigmentation. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 8, n. 1, p. 1, 2009.

JANNIN, J.; VILLA, L. An overview of Chagas disease treatment. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102 (Suppl. I), p. 95-97, 2007.

JARADAT, N. A.; KHAWAJA, M. M.; ABU-HADID, M. M. Novel serial extraction method for antibacterial and antifungal evaluations of the entire *Eryngium campestre* L. plant from Jerusalem/Palestine. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 905-913, 2015.

JI, X.; USMAN, A.; RZALLI, H. A. *et al.* Oil palm phenolics (OPP) inhibit pancreatic cancer cell proliferation via suppression of NF- κ B pathway. **Anticancer Research**, v. 35, n. 1, p. 97-106, 2015.

JIMENEZ-COELHO, M.; ACOSTA-VIANA, K. Y.; GURZMAN-MARIN, E. *et al.* Anti-trypanosomal activity of (8-hydroxymethylen)-trieicosanyl acetate against infective forms of *Trypanosoma cruzi*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 6, p. 666-671, 2010.

JIMENEZ-COELHO, M.; GUZMAN-MARIN, E.; PEREZ-GUITIERREZ, S. *et al.* Antitrypanosomal activity of *Senna villosa* in infected BALB/c mice with *Trypanosoma cruzi* during the sub acute phase of infection. **The African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 8, p. 164-169, 2011.

JOHANN, S.; PIZZOLATTI, M. G.; DONNICI, C. L. *et al.* Antifungal properties of plants used in Brazilian traditional medicine against clinically relevant fungal pathogens. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 4, p. 632-637, 2007.

JUDITH, O.; SAFFUDIN, D.; CATHERINE, L. *et al.* Phytochemical screening of *Dierama cupuliflorum* Klatt. (Iridaceae). **Journal of Pharmacy Research**, v. 8, n. 4, p. 589-592, 2014.

KANADASWAMI, C.; LEE, L. T.; LEE, P. P. H. *et al.* The antitumor activities of flavonoids. **In vivo**, v. 19, n. 5, p. 895-909, 2005.

KANNAN, M.; CHANDRAN, R. P.; MANJU, S. Preliminary Phytochemical and Antibacterial Studies on Leaf Extracts of *Alternanthera Brasiliana* (L.) Kuntze. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 7, 2014.

KANWAL, Q.; HUSSAIN, I.; LATIF, S. H. *et al.* Antifungal activity of flavonoids isolated from mango (*Mangifera indica* L.) leaves. **Natural Product Research**, v. 24, n. 20, p. 1907-1914, 2010.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P. MOBLEY, H. L. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature**, v. 2, p. 123-140, 2004.

KARIOTI, A.; SKALTASA, H.; KAISER, M. *et al.* Trypanocidal, leishmanicidal and cytotoxic effects of anthecotulide-type linear sesquiterpene lactones from *Anthemis auriculata*. **Phytomedicine**, v. 16, n. 8, p. 783-787, 2009.

KARTAL, M.; MITAINE-OFFER, A. C.; PAULULAT, T. *et al.* Triterpene saponins from *Eryngium campestre*. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 1105-1108, 2006.

KATAOKA, M.; HIRATA, K.; KUNIKATA, T. *et al.* Antibacterial action of tryptanthrin and kaempferol, isolated from the indigo plant (*Polygonum tinctorium* Lour.), against *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils. **Journal of Gastroenterology**, v. 36, n. 1, p. 5-9, 2001.

KATAOKA, V. M. F.; MELO, A. M. M. F.; EBERHARDT, G. N. *et al.* Avaliação da composição química e atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos das cascas dos frutos e das folhas de *Campomanesia adamantium*. In: **IX Simpósio Nacional Cerrado, 2008**, Brasília-DF, 2008.

KHANNA, V. G.; KANNABIRAN, K.; GETTI, G. Leishmanicidal activity of saponins isolated from the leaves of *Eclipta prostrata* and *Gymnema sylvestre*. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 41, n. 1, p. 32, 2009.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado Brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, 2005.

KOŁODZIEJ, H.; BURMEISTER, A.; TRUN, W. *et al.* Tannins and related compounds induce nitric oxide synthase and cytokines gene expressions in *Leishmania major*-infected macrophage-like RAW 264.7 cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 23, p. 6470-6476, 2005.

KOŁODZIEJ, H.; KIDERLEN, A. F. Antileishmanial activity and immune modulatory effects of tannins and related compounds on *Leishmania* parasitised RAW 264.7 cells. **Phytochemistry**, v. 66, n. 17, p. 2056-2071, 2005.

KOMURAI AH, B.; CHINDE, B.; KUMAR, A. N. *et al.* Isolation of Phytochemicals From Anticancer Active Extracts of *Syzygium alternifolium* Walp. Leaf. **Pharmacognosy Journal**, v. 6, n. 4, p. 83-85, 2014.

KONTOYIANNIS, D. P.; VAZIRI, I.; HANNA, H. A. *et al.* Risk factors for *Candida tropicalis* fungemia in patients with cancer. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, n. 10, p. 1676-1681, 2001.

KOTHAVADE, R. J.; KURA, M. M.; VALAND, A. G. *et al.* *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole. **Journal of Medical Microbiology**, v. 59, n. 8, p. 873-880, 2010.

KOVÁCS, A.; VASAS, A.; HOHMANN, J. Natural phenanthrenes and their biological activity. **Phytochemistry**, v. 69, p. 1084–1110, 2008.

KRCMERY, V.; BARNES, A. J. Non-albicans *Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. **Journal of Hospital Infection**, v. 50, p. 243-60, 2002.

KRESS, C. L.; KONOPLEVA, M.; MARTINEZ-GARCIA, V. *et al.* Triterpenoids display single agent anti-tumor activity in a transgenic mouse model of chronic lymphocytic leukemia and small B cell lymphoma. **PLoS One**, v. 2, n. 6, p. e559, 2007.

KUMAR, R. S.; RAJKAPOOR, B.; PERUMAL, P. Antitumor and cytotoxic activities of methanolic extract of *Indigofera linnaei* Ali. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 12, n. 3, p. 613-8, 2011.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.

KUMAR, V. P.; CHAUHAN, N. S.; PADHH. *et al.* Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, n. 2, p. 182-188, 2006.

KUPCHAN, S. M.; PATEL, A. C.; FUJITA, E. Tumor inhibitors VI. Cissampareine, new cytotoxic alkaloid from *Cissampelos pareira*. Cytotoxicity of bisbenzylisoquinoline alkaloids. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, n. 4, p. 580-583, 1965.

LAGHARI, A. H.; MEMON, S.; NELOFAR, A. *et al.* Antifungal Ursene-Type Triterpene

from the Roots of *Alhagi camelorum*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 95, n. 9, p. 1556-1560, 2012.

LAINSON, R.; SHAW, J. J.; RYAN, L. Leishmaniasis in Brasil: XXI. Visceral leishmaniasis in the Amazon region and further observations on the role of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) as the vector. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 10, n. 1, p. 125-128, 1985.

LAINSON, R.; SHAW, J.J.; WARD, R.D. *et al.* Leishmaniasis in Brazil : XIII. Isolation of *Leishmania* from armadillos (*Dasypus novemcinctus*), and observations on the epidemiology of cutaneous leishmaniasis in north Pará State. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, n. 2, p. 239-242, 1979.

LAW, D.; MOORE, C. B.; JOSEPH, L. A. *et al.* High incidence of antifungal drug resistance in *Candida tropicalis*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.7, n. 4, p. 241-245, 1996.

LEE, S. J.; SUNG, J. H.; LEE, S. J. *et al.* Antitumor activity of a novel ginseng saponin metabolite in human pulmonary adenocarcinoma cells resistant to cisplatin. **Cancer Letters**, v. 144, n. 1, p. 39-43, 1999.

LEFB. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2010. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 20/01/2016.

LEITE, A. C.; PLACERES-NETO, A.; AMBROSZIN, A. R. *et al.* Trypanocidal activity of flavonoids and limonoids isolated from Myrsinaceae and Meliaceae active plant extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 01-06, 2010.

LEITE, N. F.; SOBRAL-SOUZA, C. E.; ALBUQUERQUE, R. S. *et al.* Atividade antiparasitária *in vitro* e citotóxica de cariofileno e eugenol contra *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania brasiliensis*. **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 4, 2013.

LEVINE, M. M. *Escherichia coli* infections. **Bacterial vaccines**, p. 187-235, 1984.

LEVINSON, W. **Microbiologia médica e imunologia**. 13 ed. McGraw Hill Brasil, part V, 2016.

LEVY, A. S.; CARLEY, S. K. Cytotoxic Activity of Hexane Extracts of *Psidium Guajava* L (Myrtaceae) and *Cassia Alata* L (Caesalpineaceae) in Kasumi-1 and OV2008 Cancer Cell Lines. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 11, n. 2, p. 201-207, 2012.

LIMA NETO, G. A.; KAFFASHI, S.; LUIZ, W. *et al.* Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, supl. 3, p. 1069-1077, 2015.

LIMA, A. R.; BARBOSA, V. C.; SANTOS-FILHO, P. R. *et al.* Avaliação *in vitro* da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de folhas de bardana. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 531-536, 2006a.

LIMA, E. B.; PORTO, C.; MOTTA, J. O. C. D. *et al.* Tratamento da leishmaniose tegumentar americana. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 2, p. 111-124, 2007.

LIMA, F. W. J.; DAMTAS-BARROS, A. M.; SOARES, B. M. *et al.* The composition and anti-microbial activity of the essential oil from *Eremanthus erythropappus* (DC) Macleish (Candeia). **International Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, v. 3, p. 1-10, 2013.

LIMA, M. R.; XIMENES, E. C.; LUNA, J. S. *et al.* The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 300-306, 2006b.

LIN, C. N.; LIOU, S. J.; LEE, T. H. *et al.* Xanthone derivatives as potential anti-cancer drugs.

Journal of Pharmacy and Pharmacology, v. 48, n. 5, p. 539-544, 1996.

LINGARAJU, D. P.; SUDARSHANA, M. S.; MAHENDRA, C. *et al.* Phytochemical screening and antimicrobial activity of leaf extracts of *Eryngium foetidum* L. (Apiaceae). **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 2, p. 4339-4344, 2016.

LIU, M.; YANG, S.; JIN, L. *et al.* In vitro antitumor and antioxidant activities of *Belamcanda chinensis* (L.) DC. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 43, p. 5566-5569, 2012.

LIVERMORE, D. M. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare?. **Clinical infectious diseases**, v. 34, n. 5, p. 634-640, 2002.

LOACES, D. L.; RODRÍGUEZ LUIS, I; CABRERA, G. S. Descubrimiento y desarrollo de agentes anticancerígenos derivados de plantas medicinales. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 8, n. 3, p. 0-0, 2003.

LOBO, J. F. R.; CASTRO, E. C.; GOUVEA, D. R. *et al.* Antiproliferative activity of *Eremanthus crotonoides* extracts and centratherin demonstrated in brain tumor cell lines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 6, p. 1295-1300, 2012.

LOPES, P. M.; QUEIROZ, T. F. F.; RODRIGUES, F. C. *et al.* *Escherichia coli* como agente etiológico de infecções do trato urinário em pacientes do município de Viçosa-MG. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 1, p. 43-47, 2012.

LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. D.; NAGEM, T. J. *et al.* Flavonóides. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 17, p. 18-22, 2000.

LOPEZ-BERESTEIN G.; BODEY, G. P.; FAINSTEIN, V. *et al.* Treatment of systemic fungal infections with liposomal amphotericin B. **Archives of Internal Medicine**, v. 149, p. 2533-2536, 1989.

LORENZI, G. M. A. C. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.- A recaceae: bases para o extrativismo sustentável. 2006. Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil**. São Paulo: Nova Odessa:Plantarum, 1998.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras exóticas cultivadas: de consumo in natura**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 1-640, 2006.

LOUDON, K. W.; COKE, A. P.; BURNIE, J. P. *et al.* Kitchens as a source of *Aspergillus niger* infection. **Journal of hospital Infection**, v. 32, n. 3, p. 191-198, 1996.

LUISI, F. A. V.; PETRILLI, A. S.; TANAKA, C. *et al.* Contribution to the treatment of nausea and emesis induced by chemotherapy in children and adolescents with osteosarcoma. **São Paulo Medical Journal**, v.124, n.2, p.61-65, 2006.

LUIZ, R. L. F.; VILA, T. V. M.; MELLO, J. C. P. *et al.* Proanthocyanidins polymeric tannin from *Stryphnodendron adstringens* are active against *Candida albicans* biofilms. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1, 2015.

LUJÁN, D. A.; LUJÁN, L. M.; MAMANI, E. Resistência a antibióticos de Cepas *Escherichia coli* isoladas de infecções do trato urinário adquiridas na comunidade-cidade de Lima, Peru. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde= Journal of Health Sciences**, v. 14, n. 1, 2012.

MACEDO, A. F.; LAGE, C. L.; ESQUIBEL, M. A. *et al.* Preliminary phytochemical and pharmacological studies on plantlets of *Alternanthera brasiliana* cultured under different spectral quality of lights. **Jornal Acta Farm Bonaerense**, v. 23, p. 515-9, 2004.

MACEDO, E.; ALAN E SILVA, J. G.; SILVA, M. G. V. Quimiodiversidade e Propriedades Biofarmacológicas de Espécies de *Senna* Nativas do Nordeste do Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 169-195, 2016.

MACEDO, J.; SANTOS, J.. Complicações infecciosas em pacientes queimados. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 21, n. 2, p. 108-111, 2006.

MACHADO, F. S.; TANOWITZ, H. B.; TEIXEIRA, M. M. New drugs for neglected infectious diseases: Chagas' disease. **British Journal of Pharmacology**, v. 160, p. 258–259, 2010a.

MACHADO, H. L.; SANTOS, G; SILVA, L. E. *et al.* Avaliação da atividade antiparasitária e citotóxica da *Acosmium dasycarpum*. In: **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2007.

MACHADO, M. C. F. P.; MELO JUNIOR, M. R. Avaliação do efeito antitumoral da *Kalanchoe brasiliensis* sobre o sarcoma 180 em camundongos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 1, 2009.

MACHADO, P. R.; AMPUERO, J.; MAGALHÃES, L. H. *et al.* Miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in Brazil: a randomized and controlled trial. **PLoS Neglected Tropical Disease**, v. 4, n. 12, p. e912, 2010b.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, V. F. *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quimica Nova*, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MADRID, A.; ESPINOZA, L.; GONZALEZ, C. *et al.* Antifungal study of the resinous exudate and of meroterpenoids isolated from *Psoralea glandulosa* (Fabaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, n. 3, p. 809-811, 2012.

MADUBUNYI, I. I. Antihepatotoxic and trypanocidal activities of the ethanolic extract of *Nauclea latifolia* root bark. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v. 3, n. 2, p. 23-35, 1996.

MAERTENS, J.; BOOGAERTS, M. The place for itraconazole in treatment. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, n. suppl 1, p. i33-i38, 2005.

MAGOSSO, M. F.; CARVALHO, P. C.; SHNEIDER, B. U. C. *et al.* *Acrocomia aculeata* prevents toxicogenetic damage caused by the antitumor agent cyclophosphamide. **Genetics and Molecular Research: GMR**, v. 15, n. 2, 2015.

MAHMOUDVAND, H.; EZZATKHAH, F.; SHARIFIFAR, F. *et al.* Antileishmanial and cytotoxic effects of essential oil and methanolic extract of *Myrtus communis* L. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 53, n. 1, p. 21-27, 2015.

MALEBO, H. A.; WENZLER, T.; CAL, M. *et al.* Anti-protozoal and structure-activity relationships of chemical constituents of *Acridocarpus chloropterus* Oliver (Malpighiaceae) from Tanzania. **International Journal of Natural Products Research**, v. 3, n. 4, p. 74-81, 2013.

MANN, J. Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. **Nature Reviews Cancer**, v. 2, n. 2, p. 143-148, 2002.

MARČETIĆ, M. D.; PETROVIC, S. D.; MILENKOVIC, M. T. *et al.* Composition, antimicrobial and antioxidant activity of the extracts of *Eryngium palmatum* Pančić and Vis. (Apiaceae). **Central European Journal of Biology**, v. 9, n. 2, p. 149-155, 2014.

MARIATH, I. R.; LIMA, I. O.; LIMA, E. O. *et al.* Atividade antifúngica do óleo essencial de *Eugenia aromatica* B. contra fungos dematiáceos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 87, n. 3, p. 81-84, 2006.

MARQUES, P. A. C.; PIERIN, A. M. G. Fatores que influenciam a adesão de pacientes com câncer à terapia antineoplásica oral. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 21, n. 2, p. 323-9, 2008.

MARTELLO, M. D.; DAVID, N.; MATUO, R. *et al.* *Campomanesia adamantium* extract induces DNA damage, apoptosis, and affects cyclophosphamide metabolism. **Genetics and molecular**, v. 15, n.2, 2016.

MARTÍNEZ, A. **Flavonoides. Facultad de Química Farmacéutica**, Universidad de Antioquia: Medellín, 2005.

MARTINEZ, R. Atualização no uso de agentes antifúngicos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 32, n. 5, p. 449-460, 2006.

MARTINEZ, R.; FIGUEIREDO, J. F. C. Diagnóstico e tratamento empírico de infecções bacterianas agudas. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 36, n. 2/4, p. 345-350, 2003.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C. *et al.* **Plantas Medicinais**. 1 ed. Viçosa: Editora UFV, 2003.

MARTINS, J. F. L.; MARTINS, A. D. O.; MILAGRES, R. C. R. M. *et al.* Resistência a antibióticos de *Staphylococcus aureus* isolados de dietas enterais em um hospital público de Minas Gerais. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 28, n. 1, p. 9-14, 2007.

MARTINS, M. M.; ARAÚJO, H. L.; ABDALLA, C. B. M. *et al.* Avaliação do potencial antioxidante e prospecção fitoquímica do extrato etanólico dos galhos de *Banisteriopsis oxyclada* (A. Juss.) B. Gates. In: **XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2014, Poços de Caldas – MG**, 2014.

MARTINS, W. A.; SOUZA, V. B.; ROCHA, L. F. C. *et al.* Cardiomiopatia por Doxorubicina em Pacientes com Câncer de Mama—A Propósito de Dois Casos. **Revista Brasileira de Cardiologia**, v. 24, n. 3, p. 196-198, 2011.

MARZOUK, M. S. A.; MOHARRAM, F. A.; MOHAMED, M. A. *et al.* Anticancer and antioxidant tannins from *Pimenta dioica* leaves. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 62, n. 7-8, p. 526-536, 2007.

MASOKO, P.; GALOLO, S. S.; MOKGOTHO, M. P. *et al.* Evaluation of the antioxidant, antibacterial, and antiproliferative activities of the acetone extract of the roots of *Senna italica* (Fabaceae). **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 7, n. 2, 2010.

MATHABE, M. C.; HUSSEIN, A. A.; NIKOLOVA, R. V. *et al.* Antibacterial activities and cytotoxicity of terpenoids isolated from *Spirostachys africana*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 116, n. 1, p. 194-197, 2008.

MATOS, L. G.; SANTOS, L. D. A. R.; VILELA, C. F. *et al.* Atividades analgésica e/ou antiinflamatória da fração aquosa do extrato etanólico das folhas da *Spiranthera odoratissima* A. St. Hillaire (manacá). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 15-16, 2003.

MATSUO, M.; SASAKI, N.; SAGA, K. *et al.* Cytotoxicity of flavonoids toward cultured normal human cells. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 2, p. 253-259, 2005.

MATSUURA, H. N.; PORTO, D. D.; FETT-NETO, A. G.. Bioactive alkaloids from South American *Psychotria* and related Rubiaceae. **In: Natural Products. Springer Berlin Heidelberg**, p. 119-147, 2013.

MAYRINK, W.; BOTELHO, A. C. D. C.; MAGALHÃES, P. A. *et al.* Immunotherapy, immunochemotherapy and chemotherapy for American cutaneous leishmaniasis treatment. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 14-21, 2006.

MAZOIR, N.; BENHARREF, A.; BAILÉN, M. *et al.* Antileishmanial and antitrypanosomal activity of triterpene derivatives from latex of two *Euphorbia* species. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 66, n. 7-8, p. 360-366, 2011.

MCCULLOUGH, M. J.; ROSS, B. C.; READE, P. C. *Candida albicans*: a review of its history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes, and methods of strain differentiation. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 25, n. 2, p. 136-144, 1996.

MELENDÉZ, P. A.; CAPRILES, V. A. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. **Phytomedicine**, v.13, n. 4, p. 272-6, 2006.

MELIÇO-SILVESTRE, A.; CUNHA, J. G. S. **Doenças Infeciosas: o desafio da clínica**. 2008. Disponível em: <<http://rihuc.huc.min-saude.pt/bitstream/10400.4/716/1/Doen%C3%A7as%20infecciosas%20Monografia.pdf>> Acesso em: 01 de abril de 2016.

MELLO, J. C.P.; SANTOS, S. C. Taninos. **In: SIMÕES, C.M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed.UFRGS/Ed.UFSC, 2007. cap. 24, p.517-543, 2001.

MELO, G. M. A.; SILVA, M. C. R.; GUIMARÃES, T. P. *et al.* Leishmanicidal activity of the crude extract, fractions and major piperidine alkaloids from the flowers of *Senna spectabilis*. **Phytomedicine**, v. 21, n. 3, p. 277-281, 2014.

MENDONÇA-FILHO, R. R.; RODRIGUES, I. A.; ALVIANO, D. S. *et al.* Leishmanicidal activity of polyphenolic-rich extract from husk fiber of *Cocos nucifera* Linn.(Palmae). **Research in Microbiology**, v. 155, n. 3, p. 136-143, 2004.

MENEZES, E. A.; MENDES, L. G.; CUNHA, F. A. *et al.* Resistência a antifúngicos de *Candida tropicalis* isoladas no estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 2 p. 354-355, 2009a.

MENEZES, T. O. A.; ALVES, A. C. B. A.; VIEIRA, J. M. S. *et al.* Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 38, n. 3, p. 184-91, 2009b.

MEOTTI, F. C. Análise dos mecanismos de ação antinociceptiva e antiinflamatória do flavonóide miricitrina: Estudos *in vivo* e *in vitro*. 2006. Tese (Doutorado em Bioquímica Toxicológica), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil, 2006.

MERGHACHE, D.; BOUCHERIT-OTMANI, Z.; MERGACHE, S. *et al.* Chemical composition, antibacterial, antifungal and antioxidant activities of Algerian *Eryngium tricuspidatum* L. essential oil. **Natural Product Research**, v. 28, n. 11, p. 795-807, 2014.

MESQUITA, M. L. **Potencial antitumoral de substâncias isoladas de plantas do Cerrado brasileiro: estudos preliminares do mecanismo de ação da atividade citotóxica**. 2009. Tese (Doutorado em Ciências Médicas), Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2009.

MESQUITA, M. L.; DESRIVOT, J.; FOURNET, A. de *et al.* Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 7, p. 783-787, 2005.

MESSIAS, M. C. T. B.; MENEGATTO, M. F.; PRADO, A. C. C. *et al.* Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 76-104, 2015.

MICHELIN, D. C.; SANNOMIYA, M.; FIGUEIREDO, M. E. *et al.* Antimicrobial activity of *Byrsonima* species (Malpighiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 690-695, 2008.

MILES, D. H.; KOKPOL, U. Tumor inhibitors II: constituents and antitumor activity of *Sarracenia flava*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 65, p. 284-285, 1976.

MISHRA, B. B.; KALE, R. R.; PRASAD, V. *et al.* Scope of natural products in fighting against leishmaniasis. **Bioactive natural products: Opportunities and Challenges in Medicinal Chemistry**, 1st ed. World Scientific Publishing Company, p. 121-154, 2011.

MISHRA, G. S.; MEHTA, N; PAL, M. Chronic bilateral otomycosis caused by *Aspergillus niger*. **Mycoses**, v. 47, n. 1-2, p. 82-84, 2004.

MITTERMEIER, R. A.; MYERS, N.; THOMSEN, J. B. *et al.* Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: approaches to setting conservation priorities. **Conservation biology**, v. 12, n. 3, p. 516-520, 1998.

MIYAMOTO, K. I.; KISHI, N.; KOSHIURA, R. Antitumor effect of agrimoniin, a tannin of *Agrimonia pilosa* LEDEB., on transplantable rodent tumors. **Japanese Journal Pharmacology**, v. 43, p. 187-195, 1987.

MIYAMOTO, K. I.; MURAYAMA, T.; NOMURA, M. *et al.* Antitumor activity and interleukin-1 induction by tannins. **Anticancer Research**, v. 13, n. 1, p. 37-42, 1992.

MMA - **Ministério do Meio Ambiente**. Disponível em:
<<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em 20 de Janeiro de 2016.

MMA - **Ministério do Meio Ambiente**. **Quarto relatório nacional para a convenção sobre diversidade biológica**: Brasil/Brasília, p. 248, 2011.

MMA-Ministério do Meio Ambiente, Secretaria Executiva; Departamento de Políticas de Combate ao Desmatamento. **Plano de Ação para Prevenção e Controle do Desmatamento e das Queimadas no Cerrado**. Brasília, DF, 2010. Disponível em:<http://www.mma.gov.br/estruturas/201/_arquivos/ppcerrado_201.pdf>; Acesso em: 26 de Junho de 2016.

MOBLEY, H. L. T; BELAS, R. Swarming and pathogenicity of *Proteus mirabilis* in the urinary tract. **Trends in microbiology**, v. 3, n. 7, p. 280-284, 1995.

MOHAMED, S. M.; BACHEKEET, E. Y.; BAYOUMI, S. A. *et al.* Potent antitrypanosomal triterpenoid saponins from *Mussaenda luteola*. **Fitoterapia**, v. 107, p. 114-121, 2015.

MOHAMMED, M.; EL-SOUDA, S. S.; EL.HALLOUTY, S. M. *et al.* Antiviral and cytotoxic activities of anthraquinones isolated from *Cassia roxburghii* Linn. leaves. **Herba Polonica**, v. 59, n. 4, p. 33-44, 2013.

MOHAMMED, R. S.; ZEID, A. A.; EL HAWARY, S. S. *et al.* Flavonoid constituents, cytotoxic and antioxidant activities of *Gleditsia triacanthos* L. leaves. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 21, n. 6, p. 547-553, 2014.

MOLINA-GARZA, Z. J.; BAZALDÚA-RODRIGUEZ, A. F., QUINTANILLA-LICEA, R. *et al.* Anti-Trypanosoma cruzi activity of 10 medicinal plants used in northeast Mexico. **Acta Tropica**, v. 136, p. 14-18, 2014.

MOLNAR, J.; BELADI, I.; DOMONKOS, K. *et al.* Antitumor activity of flavonoids on NK/Ly ascites tumor cells. **Neoplasma**, v. 28, n. 1, p. 11-18, 1980.

MOMIN, M. M.; BELLAH, S. F.; AFROSE, A. *et al.* Phytochemical Screening and Cytotoxicity Potential of Ethanolic Extracts of *Senna siamea* Leaves. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 4, n. 8, p. 1817-1879, 2012.

MONDAL, H.; SAHA, S.; AWANG, K. *et al.* Central-stimulating and analgesic activity of the ethanolic extract of *Alternanthera sessilis* in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1, 2014.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892, 2005.

MONTEÓN, J. A. **Efectos tóxicos de alcaloides quinolizidínicos de lupinos (Fabaceae) sobre el sistema nervoso central de la rata**. 2000. Tese (Doutorado em Biología). Universidad de Guadalajara, 2000.

MORAES, A. M. L.; PAES, R. A.; HOLANDA, V. L. **Capítulo 4: Micologia**. Disponível em: <<http://www.epsjv.fiocruz.br/upload/d/cap4.pdf>>. Acesso em: 03 de abril de 2016.

MORAES, M. A. **Análise da legislação sobre o uso de plantas medicinais no Brasil. Potencial químico-farmacológico de *Palicourea rigida* Kunth**. 2013. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturis Bioativos), Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, 2009.

MORAIS, S. M.; CATUNDA-JUNIOR, F. E. A.; SILVA, A. R. A. *et al.* Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 907, 2006.

MORAIS-BRAGA, M. F. B.; SOUZA, T. M.; SANTOS, K. K. A. *et al.* Citotocixidade e atividade antiparasitária de *Lygodium venustum* SW. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 21, n. 1, p. 50-56, 2013.

MOREIRA, L. Q. **Avaliação química e biológica da espécie *Byrsonima intermedia* A. Jus.** 2010. Dissertação (Mestrado em Obtenção e identificação de compostos bioativos), Universidade Federal de Alfenas, Alfenas/MG, 2010.

MOREIRA, R. R. D.; MARTINS, G. Z.; MAGALHÃES, N. O. *et al.* In vitro trypanocidal activity of solamargine and extracts from *Solanum palinacanthum* and *Solanum lycocarpum* of brazilian Cerrado. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 3, p. 903-907, 2013.

MOREIRA, R.; NOBERTO, F.; ROSA, E. **Quimioterapia do cancro. Os agentes alquilantes**, p. 25- 30. Disponível em:
<<http://www.spq.pt/files/magazines/articles/pdfs/3000239.pdf>>. Acesso em 29 de março de 2016.

MOREY, A.; SOUZA, F. C.; SANTOS, P. J. *et al.* Antifungal Activity of Condensed tannins from *Stryphnodendron adstringens*: Effect on *Candida tropicalis* Growth and Adhesion Properties. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 17, n. 4, p. 365-375, 2016.

MORIARITY, D. M.; HUANG, J.; YANCEY, C.A. *et al.* Lupeol is the cytotoxic principle in the leaf extract of *Dendropanax cf. querceti*. **Planta Medicinal**, v. 64, p. 370-372, 1998.

MORIER-TEISSIER, E.; BOITTE, N.; HELBECQUE, N. *et al.* Synthesis and antitumor properties of an anthraquinone bisubstituted by the copper chelating peptide Gly-Gly-L-His. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, n. 15, p. 2084-2090, 1993.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1, p. 55-63, 1983.

MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C.; FREITAS, M. F. L. *et al.* Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

MOTHANA, R. A.; AL-MUSAYEIB, N. M.; MATHEEUSSEN, A. *et al.* Assessment of the in vitro antiprotozoal and cytotoxic potential of 20 selected medicinal plants from the island of Soqatra. **Molecules**, v. 17, n. 12, p. 14349-14360, 2012.

MOTTA, A. L.; ALMEIDA, G. M. D.; ALMEIDA JUNIOR, J. N. D. *et al.* Candidemia epidemiology and susceptibility profile in the largest Brazilian teaching hospital complex. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 5, p. 441-448, 2010.

MOURA, C. O.; NASCIMENTO, G. P. V.; PINTO, C. R. G. Atividade antibacteriana de *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae). **BioFar Revista de Biologia e Farmácia**, v. 8, n. 2, 2012.

MOUSAVI, S. H.; MOALLEM, S. A.; MEHRI, S. *et al.* Improvement of cytotoxic and apoptogenic properties of crocin in cancer cell lines by its nanoliposomal form. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, n. 10, p. 1039-1045, 2011.

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL, J. J.; MARTINEZ-DIAZ, R. A. *et al.* *In vitro* screening of American plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *Trichomonas vaginalis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, n. 1, p. 101-107, 2000.

MUNIZ-RAMIREZ, A.; PEREZ-GUTIERREZ, R. M.; GARCIA-BAEZ, E. *et al.* Anti-microbial activities of diterpene labdane from seeds of *Byrsonima crassifolia*. **Boletín Latinoamericano y del Caribe Plantas Medicinales Aromatic**, v. 13, n. 1, p. 31-7, 2014.

MUNYEMANA, F.; MONDONGO, A. P.; MOÇAMBIQUE, M. *et al.* Qualitative Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity Evaluation of the Bulb Extracts of *Gladiolus psittacinus* Hook (Iridaceae). **Int Network Environ Manag Conflicts**, v. 2, n. 1, p. 14-31, 2013.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S. *et al.* **In: Enterobacteriaceae. Microbiologia Médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, cap. 29, p. 252, 2002.

MURRAY, P.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. L. A. **Microbiología médica**. Elsevier Brasil, 2006.

MUZITANO, M.; TINOCO, L. W.; GUETTE, C. *et al.* The antileishmanial activity assessment of unusual flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 18, p. 2071-2077, 2006.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

NAIR, S. C.; PANNIKAR, B.; PANIKKAR, K. R. Antitumour activity of saffron (*Crocus sativus*). **Cancer Letters**, v. 57, n. 2, p. 109-114, 1991.

NAKAMURA, C. V.; SANTOS, A. O.; VENDRAMETTO, M. C. *et al.* Atividade antileishmaniana do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallenscens* (C. DC.) Yunck. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 61-66, 2006.

NAKAMURA, H. M.; CALDEIRA, S. M.; AVILA, M. A. G. Incidência de infecções fúngicas em pacientes cirúrgicos: uma abordagem retrospectiva. **Revista SOBECC**, v. 18, n. 3, p. 49-58, 2013.

NAPOLITANO, H. B.; SILVA, M.; ELLENA, J. *et al.* Aurapten, a coumarin with growth inhibition against *Leishmania major* promastigotes. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 12, p. 1847-1852, 2004.

NASCIMENTO, A. M. A.; BRANDÃO, M. G.; OLIVEIRA, G. B. *et al.* Synergistic bactericidal activity of *Eremanthus erythropappus* oil or β -bisabolene with ampicillin against *Staphylococcus aureus*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 92, n. 1, p. 95-100, 2007.

NASCIMENTO, P. H. A.; FREITAS, R. C. Análise qualitativa de flavonóides em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e avaliação da ação antimicrobiana *in vitro*. In: **Prêmio de Produção Científica Reynaldo Camargo Neves**, Outubro, 2011.

NASKAR, M.; BHATTACHARYA, S.; BISWAS, M. Antileishmanial effect of *Ixora coccinea* leaf extracts on the in vitro growth of *Leishmania donovani* promastigotes. **Journal of Advanced Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 4, 2013.

NAVARRO, M.; NORMAN, F. F.; PÉREZ-MOLINA, J. A. *et al.* Benznidazole shortage makes Chagas disease a neglected tropical disease in developed countries: data from Spain. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 3, p. 489-490, 2012.

NCCLS. **Manual Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4], v. 23 n. 2, Estados Unidos, 2003.

NCCLS. **Manual Clinical and Laboratory Standards Institute. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras**; Norma Aprovada—Segunda Edição. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4], v. 22, n. 15 Estados Unidos, 2002.

NETO, A. G.; SILVA-FILHO, A. A.; COSTA, J. M. L. *et al.* Evaluation of the trypanocidal and leishmanicidal in vitro activity of the crude hydroalcoholic extract of *Pfaffia glomerata* (Amaranthaceae) roots. **Phytomedicine**, v. 11, n. 7, p. 662-665, 2004.

NEVES, D. P. *et al.* **Parasitologia Humana**. 12 ed. São Paulo: Editora Atheneu, Capítulos 8, 9, 10 e 11, p. 49-114, 2011a.

NEVES, L. O.; GADELHA, E. P. M.; GUERRA, J. A. O. *et al.* Estudo clínico randomizado comparando antimoníato de meglumina, pentamidina e anfotericina B para o tratamento da leishmaniose cutânea ocasionada por *Leishmania guyanensi*. *Anal Brasileiro Dermatologia*, v. 86, n. 6, 2011b.

NEVES-PINTO, C.; MALTA, V. R.; PINTO, M. D. C. F. *et al.* A trypanocidal phenazine derived from β -lapachone. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 10, p. 2112-2115, 2002.

NEWMAN, D. J.; CRGG, G. M. Natural products as source of new drugs from 1981 to 2014. **Journal Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

NOBILI, S.; LIPPI, D.; WITORTI, E. *et al.* Natural compounds for cancer treatment and prevention. **Pharmacological Research**, v. 59, n. 6, p. 365-378, 2009.

NONDO, R. S. O.; MBWAMBO, Z. H.; Z. H., KIDUKULI, A. W. *et al.* Larvicidal, antimicrobial and brine shrimp activities of extracts from *Cissampelos mucronata* and *Tephrosia villosa* from coast region, Tanzania. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, n. 1, p. 1, 2011.

NUNES, R. K. **Avaliação da atividade tripanocida e leishmanicida de produtos naturais da flora Mato-Grossense**. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

NWAFOR, S. V.; AKAH, P. A.; OKOLI, C. O. *et al.* Uterine relaxant property of the ethanolic root extract of *Cissampelos mucronata*. **Journal of Natural Remedies**, v. 2, n. 1, p. 59-65, 2002.

O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T. *et al.* Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. **European Journal of Biochemistry**, v.267, n. 17, p. 5421-6, 2000.

ODHIAMBO, J. A. **Antifungal activity, toxicity, and phytochemical composition of *Gladiolus* and *Dierema* species (Iridaceae) in Kenya**. 2015. Tese (Doutorado em Filosofia em Botânica). University of Nairobi, 2015.

ODHIAMBO, J. A.; DOSSAJI, S. F.; LUKHOB, C. W. *et al.* Antifungal activity, brine shrimp cytotoxicity and phytochemical screening of *Gladiolus watsonoides* Baker (Iridaceae). **Journal of Pharmacy Research**, v. 8, n. 9, 2014.

OGUNDARE, A. O.; OLADEJO, B. O. Antibacterial activities of the plant extract of *Alternanthera repens*. **European Journal of Botany Plant Sciences and Phytology**, v. 1, n. 4, p. 1-7, 2014.

OGUNDARE, O. A. The antimicrobial pattern and phytochemical properties of the leaf extracts of *Senna podocarpa*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 3, n. 7, p. 400-406, 2009.

OLARTE, E. I.; HERRERA, A. A.; VILLASENOR, I. M. *et al.* In vitro antitumor properties of an isolate from leaves of *Cassia alata* L. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 14, n. 5, p. 3191-3196, 2013.

OLIVEIRA, A. C.; SILVA, R. S. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. **Revista eletrônica de enfermagem**, v. 10, n. 1, 2008b.

OLIVEIRA, A. K. M.; MATIAS, L.; LOPES, S. S. *et al.* Allelopathy and influence of leaves of *Palicourea rigida* (Rubiaceae) on seed germination and seedling formation in lettuce. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 5, 2014.

OLIVEIRA, A. T.; MAHMOUD, T. S.; NASCIMENTO, G. N. L. D. *et al.* Chemical Composition and Antimicrobial Potential of Palm Leaf Extracts from Babaçu (*Attalea speciosa*), Buriti (*Mauritia flexuosa*), and Macaúba (*Acrocomia aculeata*). **The Scientific World Journal**, v. 2016, 2016.

OLIVEIRA, F. **Triagem da atividade antitumoral e antimicrobiana de plantas nativas do Cerrado da região de Diamantina – Vale do Jequitinhonha/Minas Gerais**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina/MG, 2016.

OLIVEIRA, I. S.; LIMA, J. C.; SILVA, R. M. *et al.* Triagem da atividade antibacteriana in vitro do látex e extratos de *Croton urucurana* Baillon. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 587-593, 2008c.

OLIVEIRA, M. F.; NAGAO-DIAS, A. T.; PONTES, V. M. O. *et al.* Tratamento etiológico da doença de Chagas no Brasil. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 37, n. 3, p. 209-228, 2008a.

OLIVEIRA, P. TRINDADE, G. R.; SANTOS, P. L. C. *et al.* Estudo fitoquímico e avaliações de atividades anticâncer dos espinhos da macaúba. In: XXIV Encontro Anual de Iniciação Científica, 2015.

OMS - Bulletin of the World Health Organization. Regulatory situation of herbal medicines. A Worldwide Review, Geneva, 1998.

ORHAN, D. D.; OZÇELIK, B.; OZGEN, S. *et al.* Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. **Microbiological Research**, v. 165, n. 6, p. 496-504, 2010.

OSMON, S.; WARD, S.; FRASER, V. L. *et al.* Hospital mortality for patients with bacteremia due to *Staphylococcus aureus* or *Pseudomonas aeruginosa*. **CHEST Journal**, v. 125, n. 2, p. 607-616, 2004.

OZBILGIN, A.; DURMUSKAHYA, C.; KAYKAR, H. *et al.* Antileishmanial Activity of Selected Turkish Medicinal Plants. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 12, p. 2047-2055, 2014.

OZKAN, A.; ERDOGAN, A. Antioxidant and anticancer activity of fresh corm extract from *Romulea tempskyana* (Iridaceae). **Natural Product Research**, v. 26, n. 22, p. 2126-2128, 2011.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. *et al.* Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 102-7, 2007.

PÁDUA, M. S.; MENDES-COSTA, M. C.; FERREIRA, J. M. S. *et al.* Assessment of antimicrobial activity in vitro of ethanolic extracts of *Banisteriopsis anisandra* (A. Juss.) B. Gates (Malpighiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 431-437, 2013.

PAGANI, L.; MIGLIAVACCA, R.; PALLECCHI, L. Emerging Extended-Spectrum β -Lactamases in *Proteus mirabilis*. **Journal of Clinical Microbiology**, vol. 40, n. 4, pag. 1549–1552, 2002.

PAHADIA, A.; GAWDE, R.; AGRAWAL, S. Antimicrobial activity of hydro alcoholic extract of *Areca catechu*. **International Journal of Pharmaceutical Erudition**. www.pharmaerudition.org May, v. 3, n. 1, p. 18-25, 2013.

PAHO. Pan American Health Organization. **Leishmaniasis**. 2015: Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=9470%3Aleishmaniasis&catid=6648%3Afact-sheets&Itemid=40721&lang=en>. Acesso em 23 de março de 2016.

PANDA, S. K.; MOHANTA, Y. K.; PADHI, L. *et al.* Large Scale Screening of Ethnomedicinal Plants for Identification of Potential Antibacterial Compounds. **Molecules**, v. 21, n. 3, p. 293, 2016.

PARAHYM, A. M. R. C.; SILVA, C. M.; LEÃO, M. P. C. *et al.* Invasive infection in an acute myeloblastic leukemia patient due to triazole-resistant *Candida Tropicalis*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 71, n. 3, p. 291-293, 2011.

PARIZOTTO, C. A.; SOUSA JÚNIOR, P. T.; PEREIRA JÚNIOR, R. J. *et al.* Contribuição ao estudo químico e farmacológico do cerne das raízes de *Acosmium dasycarpum* (VOG.) YAKOVLEV. In: **Anais da 56ª Reunião Anual da SBPC** Cuiabá, MT Julho /2004.

PASCOAL, A. C. R. F.; EHRENFRIED, C. A.; LOPEZ, B. G. C., *et al.* Antiproliferative activity and induction of apoptosis in PC-3 cells by the chalcone cardamonin from *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) in a bioactivity-guided study. **Molecules**, v. 19, n. 2, p. 1843-1855, 2014.

PAULA, C. D. R.; SAMPAIO, J. H. D.; CARDOSO, D. R. *et al.* Estudo comparativo da eficácia de isotionato de pentamidina administrada em três doses durante uma semana e de N-metil-glucamina 20mgSbV/kg/ dia durante 20 dias para o tratamento da forma cutânea da leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 3, p. 365-371, 2003.

PAULA, J. S.; BRYK JUNIOR, A.; LAURETTI FILHO, A. *et al.* Secondary glaucoma associated with bilateral *Aspergillus niger* endophthalmitis in an HIV-positive patient: case report. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 69, n. 3, p. 395-397, 2006.

PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; COELHO, R. G. *et al.* Evaluation of anti-Mycobacterium tuberculosis activity of *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1222-1226, 2009.

PAWAR, V. C.; THAKER, V. S. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. **Mycoses**, v. 49, n. 4, p. 316-323, 2006.

PAZ, M.; GULLÓN, P.; BARROSO, M. F. *et al.* Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 172, p. 462-468, 2015

PEARSON, Melanie M.; SEBAIHIA, M.; CHURCHER, C. *et al.* Complete genome sequence of uropathogenic *Proteus mirabilis*, a master of both adherence and motility. **Journal of bacteriology**, v. 190, n. 11, p. 4027-4037, 2008.

PEDROSO, R.; SILVA, C. P.; FURLAN, C. M.. Comparação dos principais constituintes químicos de duas espécies de arnica: Cravorana (*Porophyllum Ruderale* [Jacq.] Cass) e Varão-de-Ouro (Solidago SP.). **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, ano VII, n. 22, 2009.

PELLEGRINO, F. L. P. C.; TEXEIRA, L. M.; CARVALHO, M. D. G. S. *et al.* Occurrence of a multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone in different hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of clinical microbiology**, v. 40, n. 7, p. 2420-2424, 2002.

PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E. *et al.* Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, n. 1, p. 37-40, 2001.

PERAZA-SÁNCHEZ, S. R.; CEN-PACHECP, S.; NOH-CHIMAL, A. *et al.* Leishmanicidal evaluation of extracts from native plants of the Yucatan peninsula. **Fitoterapia**, v. 78, n. 4, p. 315-318, 2007.

PERCHELLET, E. M.; MAGILL, M. J.; HUANG, X. *et al.* 1, 4-Anthraquinone: an anticancer drug that blocks nucleoside transport, inhibits macromolecule synthesis, induces DNA fragmentation, and decreases the growth and viability of L1210 leukemic cells in the

same nanomolar range as daunorubicin in vitro. **Anti-Cancer Drugs**, v. 11, n. 5, p. 339-352, 2000.

PEREIRA I. O.; SACRAMENTO L. V. S.; MARQUES M. J. Leishmanioses: «o estado da arte». **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 9, n. 1, p. 220-38, 2011a.

PEREIRA, V. V.; **Estudo fitoquímico de *Byrsonima coccolobifolia* Kunth. (Malpighiaceae) e de atividade biológicas de espécies do gênero *Byrsonima***. 2011. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina-MG, 2011b.

PEREIRA, Z. V.; GOMES, C. F.; LOBTCHENKO, G. *et al.* Levantamento das Plantas Medicinais do Cerrado Sensu Stricto da Fazenda Paraíso–Dourados MS. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S1, p. pg. 249-251, 2007.

PERES, L. A. B.; CUNHA-JÚNIOR, A. D. Nefrotoxicidade aguda da cisplatina: mecanismos moleculares. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 35, n. 4, p. 332-340, 2013.

PERSON, A. K.; CHUDGAR, S. M.; NORTON, B. L. *et al.* *Aspergillus niger*: an unusual cause of invasive pulmonary aspergillosis. **Journal of Medical Microbiology**, v. 59, n. 7, p. 834-838, 2010.

PETRIKKOS, G.; SKIADA, A. Recent advances in antifungal chemotherapy. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 30, n. 2, p. 108-117, 2007.

PETRONELLI, A.; PANNITTERI, G.; TESTA, U. Triterpenoids as new promising anticancer drugs. **Anti-Cancer Drugs**, v. 20, n. 10, p. 880-892, 2009.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 1, p. 133-163, 2007.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J.; GIBBS, D. L. *et al.* *Candida krusei*, a multidrug-resistance opportunistic fungal pathogen: geographic and temporal trends from the artemis disk antifungal surveillance program 2001 to 2005. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, p. 515-521, 2008a.

PFALLER, M. A.; MESSER, S. A.; BOYKEN, L. *et al.* In vitro survey of triazole cross-resistance among more than 700 clinical isolates of *Aspergillus* species. **Journal of clinical microbiology**, v. 46, n. 8, p. 2568-2572, 2008b.

PICMAN, A. K. Biological activities of sesquiterpene lactones. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 14, n. 3, p. 255-281, 1986.

PIMENTEL, V. P.; VIEIRA, V. A. M.; MITIDIERI, T. L. *et al.* Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança?. **Revista do BNDES**, n. 43, p. 41-89, 2015.

PINTO, A. Y. N.; VALENTE, S. A.; VALENTE, V. C. *et al.* Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira. Estudo de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 602-614, 2008.

PINTO, E. P. P.; AMOROZO, M. C. M.; FURLAN, A. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica—Itacaré, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 751-762, 2006.

PITCHAI, D.; ROY, A.; IGNATIUS, C. In vitro evaluation of anticancer potentials of lupeol isolated from *Elephantopus scaber* L. on MCF-7 cell line. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 5, n. 4, p. 179, 2014.

PIZZOLATTI, M. G.; MENDES, B. G.; CUNHA-JR, A. *et al.* Trypanocidal activity of coumarins and styryl-2-pyrone from *Polygala sabulosa* AW Bennett (Polygalaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 177-182, 2008.

PODOLAK, I.; GALANTY, A.; SOBOLEWSKA, D. Saponins as cytotoxic agents: a review. **Phytochemistry Reviews**, vol. 9, pag. 425–474, 2010.

PORTELA, A.; GARCEZ, F. R.; RODRIGUES, E. D. *et al.* Alcalóides citotóxicos de *Pogonopus tubulosus* (A. Rich) K. Schum. (Rubiaceae). In: **35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Lindóia – SP**, 2012.

PORTO, L. C.; SILVA, J.; FERRAZ, A. B. *et al.* Evaluation of acute and subacute toxicity and mutagenic activity of the aqueous extract of pecan shells *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch. **Food Chemical and Toxicology**, v. 59, p. 579-85, 2013.

PRABHA, B.; SAVITHRAMMA, N. Screening of phytochemical constituents of the leaves of *Clinacanthus siamensis* BREMEK and *Cissampelos pareira* L. used as antidote for snake bite in indigenous medicine. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 8, 2014.

PRASAD, N. R.; ANANDI, C.; BALASUBRAMANIAN, S. *et al.* Antidermatophytic activity of extracts from *Psoralea corylifolia* (Fabaceae) correlated with the presence of a flavonoid compound. *Journal of ethnopharmacology*, v. 91, n. 1, p. 21-24, 2004b.

PRASAD, R.; KUMAR, R.; JAISWAL, B. P. *et al.* Miltefosine : An Oral Drug for Visceral Leishmaniasis. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 71, n. 2, p. 143-144, 2004a.

PULIPATI, S.; SRINIVASA, P. N. B.; KUMAR, U. E. *et al.* Phytochemical analysis and antimicrobial investigations of ethanolic leaf extract of *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) GRISEB. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 2, 2016.

PUPO, S. C.; DAVISON, G. P.; MARTINEZ-SÁNCHEZ, G. *et al.* Avaliação da atividade antiinflamatória crônica do extrato etanólico de *Bouchea fluminensis* (Verbenaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 27, p. 364-368, 2008.

QUEIROZ, G. M.; NOGUEIRA, A. C. K.; RIBEIRO, T. A. N. *et al.* Avaliação da atividade tripanocida e leishmanicida de *Spiranthera odoratissima* St. Hil. **In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia/SP**, 2008.

QUEIROZ, G. S.; HELLER, M.; ARRUDA-SILVA, F. *et al.* Antibacterial and Anti-Inflammatory activities of *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC.(Malpighiaceae). **Records of Natural Products**, v. 9, n. 3, p. 419-431, 2015.

QUINTERO, C. H. G. Resistencia de levaduras del género Candida al fluconazol. **Infectio**, v. 14, p. 172-180, 2010.

RAJESHWAR, Y. GUPTA, M.; MAZUMDER, U. K.i. Antitumor activity and in vivo antioxidant status of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) seeds against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice. **Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics**, v. 4, n. 1, p. 46-53, 2005.

RAMÍREZ, I.; CARABOT, A.; MELÉNDEZ, P. *et al.* Cissampeloflavone, a chalcone-flavone dimer from *Cissampelos pareira*. **Phytochemistry**, v. 64, n. 2, p. 645-647, 2003.

RAMÍREZ-MACÍAS, I.; MARÍN, C.; CHAHBOUN, R. *et al.* In vitro evaluation of new terpenoid derivatives against *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 3, p. 370-376, 2012.

RAMOS, D. D.; CARDOSO, C. A. L.. Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S2, p. pg. 774-776, 2007.

RASSI, A.; RASSI, A.; REZENDE, J. M. American trypanosomiasis (Chagas disease). **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, p. 275-29, 2012.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 57-69, 2001.

RATH, S.; TRIVELIN, L. A.; IMBRUNITO, L. A. *et al.* Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, n. 26, p. 550-553, 2003.

RATHI, S.; SUTHAR, M.; PATEL, P. *et al.* In-vitro cytotoxic screening of *Glycyrrhiza glabra* L.(Fabaceae): A natural anticancer drug. **Journal of Young Pharmacists**, v. 1, n. 3, p. 239, 2009.

RAVEENDRAN, V. V.; VIJAYAN, F. P.; PADIKKALA, J. Antitumor activities of an anthraquinone fraction isolated from in vitro cultures of *Ophiorrhiza rugosa* var *decumbens*. **Integrative Cancer Therapies**, p. 1534735411403478, 2011.

REGASINI, L. O.; COTINGUIBA, F.; PASSERINI, G. D. *et al.* Trypanocidal activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 199-203, 2009.

REGASINI, L. O.; PIVATTO, M.; SCORZONI, L. *et al.* Antimicrobial activity of *Pterogyne nitens* Tul., Fabaceae, against opportunistic fungi. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 706-711, 2010.

REICHERT, C. L. **Avaliação da aplicação de modelos comportamentais na busca de planta promissora para produção de novos produtos para ansiedade e depressão na indústria farmacêutica nacional**. 2011. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

REIS, A. S.; RIOS, C. E. P.; MELO, L. P. *et al.* Atividade leishmanicida *in vitro* de frações do extrato hidroalcoólico das folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. **Revista de Ciências da Saúde**, 2012.

REVOLLO, S.; OURY, B.; LAURENT, J. P. *et al.* *Trypanosoma cruzi*: impact of clonal evolution of the parasite on its biological and medical properties. **Experimental Parasitol**, v. 89, p. 30-39, 1998.

REYES-CHILPA, R.; ESTRADA-MUNIZ, E.; VEJA-AVILA, E. *et al.* Trypanocidal constituents in plants: 7. Mammea-type coumarins. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 5, p. 431-436, 2008.

REZA, V. R. M.; ABBAS, H. Cytotoxicity and antimicrobial activity of harman alkaloids. **Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 2, n. 7, p. 677-680, 2007.

REZENDE, A. V.; WALTER, B.T.; FAGG, C. W. Cerrado: Ecologia e Flora. **Embrapa**, v. 2, p. 876, 2008.

RIBEIRO, A. O.; SILVA, A. F.; CASTRO, A. H. F. Identificação de espécies da família Asteraceae, revisão sobre usos e triagem fitoquímica do gênero *Eremanthus* da Reserva Boqueirão, Ingaí-MG. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, n. 4, p. 456-465, 2010.

RIBEIRO, A.; PILÓ-VELOSO, D.; ROMANHA, A. *et al.* Trypanocidal flavonoids from *Trixis vauthieri*. **Journal of Natural Products**, v. 60, n. 8, p. 836-838, 1997.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. **Cerrado: ambiente e flora**, 1998.

RIBEIRO, T. G.; CHAVEZ-FUMAGALLI, M. A.; VALADARES, D. G. *et al.* Antileishmanial activity and cytotoxicity of Brazilian plants. **Experimental Parasitology**, v. 143, p. 60-68, 2014.

RIBEIRO, T. G.; NASCIMENTO, A. M.; HENRIQUES, B. O. *et al.* Antileishmanial activity of standardized fractions of *Stryphnodendron obovatum* (Barbatimão) extract and constituent compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 165, p. 238-242, 2015.

RISS, T. L.; MORAVEC, R.; NILES, A. *et al.* Cell Viability Assays. **Assay Guidance Manual [Internet]**, 2015.

RIVERO-CRUZ, J. F.; SANCHEZ-NIETO, S.; BENITEZ, G. *et al.* Antibacterial compounds isolated from *Byrsonima crassifolia*. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 37, p. 155-163, 2009.

ROCHA, M. C. J.; DUARTE, I.D.; MOROZESK, M. Avaliação do extrato aquoso de *Alternanthera tenella* Colla peko ensaio do micronúcleo. **In: XXI Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, Porto de Galinhas-PE**, 2012.

ROCHA, R. M.; SCHNEIDER, R. S.; MOREIRA, I. Cardio-oncologia—Onde estamos?. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 12, n. 3, 2013.

RODRIGUES, E. Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (Caboclo-river dweller, Indian and Quilombola). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 295-302, 2007.

RODRIGUES, F. M.; SANTOS, O.; GELATTI, L. C. *Staphylococcus aureus*: uma revisão. **Fasem Ciências**, v. 2, n. 2, p. 90-101, 2012a.

RODRIGUES, I. A.; ALVIANO, D. S.; GOMES M. T. *et al.* In vitro anti-*Leishmania amazonensis* activity of the polymeric procyanidin-rich aqueous extract from *Syagrus coronata*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 16, p. 3781-3790, 2011.

RODRIGUES, K. A. F.; AMORIM, L. V.; DIAS, C. N. *et al.* Atividade leishmanicida, hemolítica e citotóxica do óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora*. **In: 64ª Reunião Anual da SBPC, 2012, São Luís. Anais da 64ª Reunião Anual da SBPC**, 2012b.

RODRIGUES, K.; RAMOS, D. F.; CARRION, L. L. *et al.* Antifungal activity of Brazilian Amazon plants extracts against some species of *Candida* spp.. **International Journal Phytopharmacology**, v. 5, p. 445-453, 2014.

RODRIGUES, T. M.; GRIECO, A. S.; SIMÕES, F. A. *et al.* **Como diagnosticar e tratar infecção urinária.** Moreira Jr. Editora, v. 2010, 2010.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do Cerrado na região do Alto Rio Grande-Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p. 101-123, 2007

RODRÍGUEZ, R. I. C.; TALAVERA, T. R. A.; GORDILLO, R. M. Evaluación bactericida de polifenoles presentes em plantas de palma de coyol (*Acrocomia aculeata*). **In: XVII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, Mar del Norte, n. 5, col. San Álvaro Azcapotzalco, México, 2009.**

ROJAS, R.; BUSTAMANTE, B.; VENTOSILLA, P. *et al.* Larvicidal, antimycobacterial and antifungal compounds from the bark of the Peruvian plant *Swartzia polyphylla* DC. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 54, n. 2, p. 278-279, 2006.

ROJAS-SILVA, P.; GRAZIOSE, R.; VESELY, B. *et al.* Leishmanicidal activity of a daucane sesquiterpene isolated from *Eryngium foetidum*. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 3, p. 398-401, 2014.

ROJAS-SILVA, P.; GRAZIOSE, R.; VESELY, B. *et al.* Seeking novel Leishmanicidal natural products from common medicinal plants, the example of *Eryngium foetidum* L. **Planta Medica**, v. 78, n. 11, p. PF87, 2012.

ROMAN-JÚNIOR, A.; CARDOSO, M. L. C.; VILEGAS, W. *et al.* a New Antimicrobial from the Roots of *Heteropteris aphrodisiaca*. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 24, n. 4, p. 543-5, 2005.

ROMAN-JÚNIOR, W. A. **Apostila. Farmacognosia I: Conteúdo teórico.** Universidade Comunitária Regional de Chapecó, Chapecó, 2005.

ROMAN-JÚNIOR, W. A. **Identificação de nitrocomposto e di-hidroflavonóis, atividades antibacteriana, antifúngica, e antiviral de substâncias isoladas dos extratos liofilizados das raízes de *Heteropteris aphrodisia* O. Mach., Malpighiaceae, Nó-de-Cachorro.** 2002. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara/SP, 2002.

ROSA, E. A.; SILVA, B. C.; SILVA, F. M. D. *et al.* Flavonoids and antioxidant activity in *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 484-488, 2010.

ROSA, L. R. M.; FÁTIMA, L. G.; KATO, L. *et al.* **Obtenção de frações enriquecidas de alcalóides de *Palicourea rigida* (Rubiaceae).** Disponível em: <<http://www.prp2.ueg.br/06v1/conteudo/pesquisa/inicci/encontros/sic2007/flashsic2007/arquivos/resumos/resumo35.pdf>> Acesso em: 21 de março de 2016.

ROSAL, L. F.; PINTO, J. E. B. P., BERTOLUCCI, S. K. V. *et al.* Micropropagation of the medicinal plant *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish. **HortScience**, v. 42, n. 6, p. 1420-1424, 2007.

ROSAS, M. S. L.; SILVA, B. N. M.; PINTO, R. G. M. P. *et al.* Incidência do Câncer no Brasil e o Potencial Uso dos Derivados de Isatinas na Cancerologia Experimental. *Revista Virtual de Química*, v.5, n. 2, p. 243-265, 2013.

ROSS, R. Further Notes on Leishmania's bodies. **British Medical Journal**, v. 11, p. 1401, 1903.

RUBIO, J.; CALDERÓN, J. S.; FLORES, A. *et al.* Trypanocidal activity of oleoresin and terpenoids isolated from *Pinus oocarpa*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 60, n. 9-10, p. 711-716, 2005.

RUELA-DE-SOUSA, R. R.; FUHLER, G. M.; BLOM, N. *et al.* Cytotoxicity of apigenin on leukemia cell lines: implications for prevention and therapy. **Cell Death & Disease**, v. 1, n. 1, p. e19, 2010.

RUIZ-CAMPS, I.; CUENCA-ESTRELLA, M. Antifúngicos para uso sistêmico. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 27, n. 6, p. 353-362, 2009.

SAAD, E. D.; FACINA, G.; GEBRIM, L. H. Epirubicina no tratamento do câncer de mama. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 1, p. 47-53, 2007.

SABLE, C. A.; STROHMAIER, K. M.; CHODAKEWITZ, J.A. Advances in antifungal therapy. **Annual Review of Medicine**, v. 59, p. 361-379, 2008.

SAEIDNIA, S.; GOHARIA, A. S.; UCHIYAMA, N. *et al.* Two new monoterpene glycosides and trypanocidal terpenoids from *Dracocephalum kotschyi*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, n. 10, p. 1249-1250, 2004.

SAHU, M.; VERMAAND, D.; HARRIS, K. K. Phytochemical analysis of the leaf, stem and seed extracts of *Cajanus cajan* L (Dicotyledoneae: Fabaceae). **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 8, p. 694-733, 2014.

SAINT-HILAIRE, A. F. C. P. **Plantas Usuais dos Brasileiros**. Traduzido por Maria das Graças Lins Brandão. Belo Horizonte: IDM Composição e Arte Ltda, 2009

SAKAGAMI, H.; JIANG, J.; KUSAMANA, K. *et al.* Cytotoxic activity of hydrolyzable tannins against human oral tumor cell lines—a possible mechanism. **Phytomedicine**, v. 7, n. 1, p. 39-47, 2000.

SAKARKAR, D. M., DESHMUKH, V. N. Ethnopharmacological Review of Traditional Medicinal Plants for Anticancer Activity. **International Journal of PharmTech Research**, v. 3, n. 1, p. 298-308, 2011.

SALAS, P. M.; CÉLIZ, G.; GERONAZZO, H. *et al.* Antifungal activity and enzymatically – modified flavonoids isolated from citrus species. **Food Chemistry**, v.124, p. 1411 – 1415, 2011.

SALEEM, M. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. **Cancer Letters**, v. 285, n. 2, p. 109-115, 2009.

SALEM, M. M.; WERBOVETZ, K. A. Isoflavonoids and Other Compounds from *Psoralea arborescens* with Antiprotozoal Activities. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 1, p. 43-49, 2006.

SALVADOR, J. P. **Avaliação da atividade antioxidante e fotoprotetora do extrato etanólico de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg**. 2015. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia aplicada à Saúde). Universidade Católica Dom Bosco, 2015.

SALVADOR, M. J. **Estudo químico, biológico e biotecnológico de *Alternanthera maritima* e *Alternanthera tenella* (Gomphreneae, Amaranthaceae)**. 2005. PhD Thesis, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2005.

SALVADOR, M. J.; PEREIRA, P. S.; FRANÇA, S. C. *et al.* Comparative study of antibacterial and antifungal activity of callus culture and adult plants extracts from *Alternanthera maritima* (Amaranthaceae). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 1-2, p. 131-136, 2003.

SAMARANAYAKE, Y. H.; SAMARANAYAKE, L. P. *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. **Journal of Medical Microbiology**, v. 41, n. 5, p. 295-310, 1994.

SAMOYLENKO, V.; RAHMAM, M. M.; TEKWANI, B. L. *et al.* *Banisteriopsis caapi*, a unique combination of MAO inhibitory and antioxidative constituents for the activities relevant to neurodegenerative disorders and Parkinson's disease. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 357-367, 2010.

SAMUDRALA, P. K.; AUGUSTINE, B. B.; KASALA, E. R. *et al.* Evaluation of antitumor activity and antioxidant status of *Alternanthera brasiliana* against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice. **Pharmacognosy Research**, v. 7, n. 1, p. 66, 2015.

SANCHES, A. C. C.; LOPES, G. C.; NAKAMURA, C. V. *et al.* Atividades antioxidante e antifúngica de extratos e taninos condensados de *Stryphnodendron obovatum* Benth. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 101-107, 2005.

SÁNCHEZ, S. R. **Flavonoides con actividad antitumoral: identificación y estudio del mecanismo de acción**. 2009. Tese (Doutorado em Clínica e Terapêutica), Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, 2009.

SÁNCHEZ-MEDINA, A.; STEVESON, P. C.; HABTEMARIAM, S. *et al.* Triterpenoid saponins from a cytotoxic root extract of *Sideroxylon foetidissimum* subsp. *gaumeri*. **Phytochemistry**, v. 70, n. 6, p. 765-772, 2009.

SANGLARD, D.; ISCHER, F.; CALABRESE, D. *et al.* Multiple resistance mechanisms to azole antifungals in yeast clinical isolates. **Drug Resistance Updates**, v. 1, p. 255-265, 1998.

SANNOMIYA, M.; RODRIGUES, C. M.; COELHO, R. G. *et al.* Application of preparative high-speed counter-current chromatography for the separation of flavonoids from the leaves of *Byrsonima crassa* Niedenzu (IK). **Journal of Chromatography A**, v. 1035, p. 47- 51, 2004.

SANSORES-PERAZA, P.; ROSADO-VALLADO, M.; BRITO-LOEZA, W. *et al.* Cassine, an antimicrobial alkaloid from *Senna racemosa*. **Fitoterapia**, v. 71, n. 6, p. 690-692, 2000.

SANTOS, A. C. M.; PIGNATARI, A. C. C.; SILVA, R. M. *et al.* A virulência de *Escherichia coli* patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro. **Mundo saúde (Impr.)**, v. 33, n. 4, p. 392-400, 2009a.

SANTOS, A.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C. *et al.* *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Journal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, p. 413-423, 2007.

SANTOS, É. L.; COSTA, E. V.; MARQUES, F. A. *et al.* Toxicidade e atividade antioxidante de flavonoides das cascas das raízes de *Lonchocarpus filipes*. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2255-2258, 2009b.

SANTOS, F. L. A.; LYRA, M. A. M.; ALVES, L. D. S. *et al.* Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o controle das doenças negligenciadas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, p. 37-47, 2012a.

SANTOS, K. K. A.; MATIAS, E. F.; TINTINO, S. R. *et al.* Cytotoxic, trypanocidal, and antifungal activities of *Eugenia jambolana* L. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, n. 1, p. 66-70, 2012d.

SANTOS, K. K.; MATIAS, E. F.; TINTINO, S. R. *et al.* Anti-Trypanosoma cruzi and cytotoxic activities of *Eugenia uniflora* L. **Experimental Parasitology**, v. 131, n. 1, p. 130-132, 2012c.

SANTOS, M. G. **Triagem fitoquímica e atividade antiproliferativa do extrato diclorometano-etanólico de raízes de *Eriosema crinitum* (Kunth) G. Don (Leguminosae)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina/MG, 2014.

SANTOS, M. V. **Estudo de toxicidade oral e de neurotoxicidade em ratos expostos à *Senna occidentalis***. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, SP, 2015c.

SANTOS, N. O.; MARIANE, B.; LAGO, J. H. G. *et al.* Assessing the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Brazilian Plants—*Eremanthus erythropappus* (Asteraceae), *Plectranthus barbatus*, and *P. amboinicus* (Lamiaceae). *Molecules*, v. 20, n. 5, p. 8440-8452, 2015b.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 13, n. esp, p. 64-70, 2004.

SANTOS, R. F. **Farmacognóstica a atividade antifúngica do óleo essencial de *Ageratum conyzoides* L.** 2015. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Bioativos). Universidade Federal de Pernambuco, 2015a.

SANTOS, R. N.; SILVA, M. G. V.; BRAZ FILHO, R. Constituintes químicos do caule de *Senna reticulata* Willd. (Leguminosae): Chemical constituents isolated from the wood of *Senna reticulata* Willd. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 1979-1981, 2008.

SANTOS, R. T.; HIRAMOTO, L. L.; LAGO, J. H. G. *et al.* Anti-trypanosomal activity of 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl- β -D-glucose isolated from *Plectranthus barbatus* Andrews (Lamiaceae). **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2229-2332, 2012b.

SANTOS-JÚNIOR, H. M.; CAMPOS, V. A.; ALVES, D. S. *et al.* Antifungal activity of flavonoids from *Heteropterys byrsonimifolia* and a commercial source against *Aspergillus ochraceus*: **In silico interactions of these compounds with a protein kinase.** **Crop Protection**, v. 62, p. 107-114, 2014.

SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 803-808, 2007.

SARAIVA, M. E.; ULISSES, A. V. R. A.; RIBEIRO, D. A. *et al.* Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 171, p. 141-153, 2015.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C. *et al.* Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004.

SATO, A. F.; SVIDZINSK, A. E.; CONSOLARO, M. E. L. *et al.* Nitrito urinário e infecção do trato urinário por cocos gram-positivos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 6, p. 397-404, 2005.

SAÚDE-GUIMARÃES, D. A.; FARIA, A. R. *et al.* Substâncias da natureza com atividade anti-*Trypanosoma cruzi*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 455-465, 2007.

SAXENA, G.; KALRA, S. S.; GUPTA, N. Antimicrobial activity pattern of certain terpenoids. **International Journal of Pharma Bio Sciences**, v. 2, p. 87-91, 2011.

SBFgnosia. **Sociedade Brasileira de Farmacognosia**. Disponível em: <<http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/index.html>>. Acesso em 07 de abril de 2016.

SCALBERT, A. **Antimicrobial properties of tannins**. *Phytochemistry*, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SCAZZOCCHIO, F.; COMETA, M. F.; TOMASSINI, L. *et al.* Antibacterial activity of *Hydrastis canadensis* extract and its major isolated alkaloids. **Planta Medica**, v. 67, n. 6, p. 561-564, 2001.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. **In: SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed. UFGRS/Ed. UFSC, 2001. cap. 27, p. 597-619, 2001.

SCHMIDT, T. J. Toxic activities of sesquiterpene lactones: structural and biochemical aspects. **Current Organic Chemistry**, v. 3, p. 577-608, 1999.

SCHULZE, Marília Martins. Tratamento Quimioterápico em Pacientes Oncológicos. **Revista Brasileira de Oncologia Clínica**, v. 4, n. 12, p. 17-23, 2007.

SCHUSTER, E.; DUNN-COLEMAN, N.; FRISVAD, J. C. *et al.* On the safety of *Aspergillus niger*—a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, n. 4-5, p. 426-435, 2002.

SCIO, E.; RBEIRO, A.; ALVES, T. M. *et al.* Diterpenes from *Alomia myriadenia* (Asteraceae) with cytotoxic and trypanocidal activity. **Phytochemistry**, v. 64, n. 6, p. 1125-1131, 2003.

SCORZONI, L.; LUCAS, M. P.; MESSA-ARANGO, A. C. *et al.* Antifungal efficacy during *Candida krusei* infection in non-conventional models correlates with the yeast in vitro susceptibility profile. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. e60047, 2013.

SELIGMAN, B. G. S. Uso de antimicrobianos em clínica médica. **Revista ANRIGS**, v.. 48, n. 2, p. 121-125, 2004.

SHABRAWY, M. O. A.; MARZOUK, M. M.; KAWASHTY, S. A. *et al.* Flavonoids from *Moraea sisyrinchium* (L.) Ker Gawl.(Iridaceae) in Egypt. **In: 2013 International Conference on Applied Life Sciences**, 2013.

SHAO, H; JING, K.; MAHMOUD, E. *et al.* Apigenin sensitizes colon cancer cells to antitumor activity of ABT-263. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 12, n. 12, p. 2640-2650, 2013.

SHAO, Y.; CHIN, C. K.; HO, C. T. *et al.* Anti-tumor activity of the crude saponins obtained from asparagus. **Cancer Letters**, v. 104, n. 1, p. 31-36, 1996.

SHARMA, D.C.; SHUKLA, R.; ALI, J. *et al.* Phytochemical evaluation, antioxidant assay, antibacterial activity and determination of cell viability (J774 and THP1 alpha cell lines) of *P. sylvestris* leaf crude and methanol purified fractions. **EXCLI Journal**, v. 15, p. 85, 2016.

SHUAIBU, M. N.; PENDEY, K.; WUYEP, P. A. *et al.* Castalagin from *Anogeissus leiocarpus* mediates the killing of *Leishmania* in vitro. **Parasitology Research**, v. 103, n. 6, p. 1333-1338, 2008.

SIKKEMA, J.; BONT, J. A. M.; POOLMANN, B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membrane. **The Journal of Biochemical Chemistry**, v. 269, p. 8022-8028, 1994.

SILVA, A. J. G.; MONTEIRO, J. A.; FERREIRA, E. B. *et al.* Total phenolic content, antioxidant and anticancer activities of four species of *Senna* Mil from northeast Brasil. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 7, 2014a.

SILVA, D. F.; VIDAL, F. C. B.; SANTOS, D. *et al.* Cytotoxic effects of *Euterpe oleracea* Mart. in malignant cell lines. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1, 2014b.

SILVA, E. C.; RAYOL, D. C.; MEDEIROS, P. L. *et al.* Antileishmanial activity of warifteine: a bisbenzylisoquinoline alkaloid isolated from *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae). The Scientific World Journal, v. 2012, 2012c.

SILVA, F. M.; KATO, L.; OLIVEIRA, C. M. A. *et al.* Vallesiachotamina e atividade citotóxica de *Palicourea rigida* Kunth. In: **29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2006.

SILVA, G. M.; FONSECA, F. S. A.; FERREIRA, M. F. M. *et al.* Prospecção qualitativa de taninos e flavonóides em folhas de *Acrocomia aculeata* (JACQ.) LODD. EX. MARTIUS. In: **58º Congresso Nacional Botânica, São Paulo**, 2007.

SILVA, J. G.; SOUZA, I. A.; HIGINO, J. S. *et al.* Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 572-7, 2007a.

SILVA, J. M. C.; BATES, J. M. Biogeographic Patterns and Conservation in the South American Cerrado: A Tropical Savanna Hotspot. **BioScience**, v. 52, n. 3, p. 225-33, 2002.

SILVA, J. S.; FERRIOLI-FILHO, S.; KANESIRO, M. M. *et al.* Evaluation of some organic compounds on bloodstream forms of *Trypanosoma cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 3, p. 345-351, 1992.

SILVA, L. E.; SOUSA, P. T.; ARISTANI, K. K. *et al.* Estudo químico das folhas de *Acosmium dasycarpum* (Vogel) Yakovlev. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 3, p. 664, 2015.

SILVA, L. L.; DONNICI, C. L.; LOPES, J. C. D. *et al.* Investigação eletroquímica e calorimétrica da interação de novos agentes antitumorais biscatiônicos com DNA. **Química Nova**, v. 35, n. 7, p. 1318-1324, 2012a.

SILVA, M. R. O. **Detecção da atividade antifúngica de extratos de plantas do manguezal de Vila Velha, Itamaracá-PE**. 2004. Dissertação (Mestrado em Micologia Aplicada). Universidade Federal de Pernambuco, 2004.

SILVA, P. V. B. Caracterização química e avaliação do potencial antidiabético e citotóxico de óleo extraído de *Acrocomia aculeata* (macaúba). 2012. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental). Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, 2012b.

SILVA, R. F.. Fungal infections in immunocompromised patients. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 36, n. 1, p. 142-147, 2010.

SILVA, T. B. C.; COSTA, C. O. S.; GALVÃO, A. F. *et al.* Cytotoxic potential of selected medicinal plants in northeast Brazil. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 1, 2016.

SILVA, V. C.; GIANNINI, M. FJ. S. M.; CARBONE, V. *et al.* New antifungal terpenoid glycosides from *Alibertia edulis* (Rubiaceae). **Helvetica Chimica Acta**, v. 91, n. 7, p. 1355-1362, 2008.

SILVÉRIO, M. S.; DEL-VECHIO, G.; PINTO, M. A.. *et al.* Chemical composition and biological activities of essential oils of *Eremanthus erythropappus* (DC) McLeisch (Asteraceae). **Molecules**, v. 18, n. 8, p. 9785-9796, 2013.

SIMÕES, C. M. O.; FALKENBERG, M.; MENTZ, L. A. *et al.* Antiviral activity of south Brazilian medicinal plant extracts. **Phytomedicine**, v. 6, n. 3, p. 205-214, 1999.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2007.

SIMONETTI, E. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes***. 2015. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Centro Universitário Univates, 2015.

SIMONI, I. C.; MANHA, A. P. S.; SCIESSERE, L. *et al.* Evaluation of the antiviral activity of brazilian Cerrado plants against animal viroses. **Virus Reviews & Research**, v. 12, 2007.

SINGH, B.; SINGH, S. Antimicrobial activity of terpenoids from *Trichodesma amplexicaule* Roth. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 7, p. 814-816, 2003.

SINGH, I.; MISHRA, A.; KUSHWAHA, R. K. S. Dermatophytes, related keratinophilic and opportunistic fungi in indoor dust of houses and hospitals. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 7, n. 3, p. 242-246, 2009.

SINGH, S.; SINGH, D. R.; BANU, S. *et al.* Determination of bioactives and antioxidant activity in *Eryngium foetidum* L.: a traditional culinary and medicinal herb. **Proceedings of**

the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, v. 83, n. 3, p. 453-460, 2014.

SINGH, S.; SOBEL, J. B.; BHARGAVA, P. *et al.* Vaginitis due to *Candida krusei*: epidemiology, clinical aspects, and therapy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 35, n. 9, p. 1066-1070, 2002.

SIQUEIRA, E. P.; SOUZA-FAGUNDES, E. M. D.; SOBRAL, M. E. G. de *et al.* Leishmanicidal activities of the extract from *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 416-421, 2010.

SIVAKUMAR, R.; SUNMATHI, D. Phytochemical screening and antimicrobial activity of ethanolic leaf extract of *Alternanthera sessilis* (L.) R. BR. EX DC and *Alternanthera philoxeroides* (MART.) GRISEB. **European Journal of Pharmaceutical and Medical Research**, v. 3, n. 3, p. 409-412, 2016.

SOARES, C. L. S.; PÉREZ, C. D.; MAIA, M. B. S. *et al.* Avaliação da atividade antiinflamatória e analgésica do extrato bruto hidroalcoólico do zoantídeo *Palythoa caribaeorum* (Duchassaing & Michelotti, 1860). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 463-468, 2006.

SOARES, P. R. O.; OLIVEIRA, P. L.; OLIVEIRA, C. M. *et al.* In vitro antiproliferative effects of the indole alkaloid vallesiachotamine on human melanoma cells. **Archives of Pharmacal Research**, v. 35, n. 3, p. 565-571, 2012.

SOARES, T. V.; FABRI, R. L.. Composição química e avaliação do potencial antioxidante e citotóxico das folhas de *Eremanthus erythropappus* (DC) MCLEISH (Candeia). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 3, p. 12, 2011.

SOFIATI, F. T. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas preliminares de extratos de *Polygonum acre* (Polygonaceae) HBK e *Synadenium carinatum* (Euphorbiaceae) Boiss.** 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual Paulista, Araraquara-SP, 2009.

SOH, P. N.; BENOIT-VICAL, F. Are West African plants a source of future antimalarial drugs?. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 2, p. 130-140, 2007.

SOLIS, C.; BECERRA, J.; FLORES, C. *et al.* Antibacterial and antifungal terpenes from *Pilgerodendron uviferum* (D. Don) Florin. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 49, n. 2, p. 157-161, 2004.

SOLOWEY, E.; LICHTENSTEIN, M.; SALLON, S. *et al.* Evaluating medicinal plants for anticancer activity. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, L. R. F; RAMALHO, S. D.; FERNANDES, J. B. *et al.* Leishmanicidal galloylquinic acids are noncompetitive inhibitors of arginase. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 25, n. 10, p. 1832-1838, 2014.

SOUSA, O. V.; DUTRA, R. C.; YAMAMOTO, C. H. *et al.* Estudo comparativo da Composição Química e da Atividade biológica dos Óleos Essenciais das Folhas de *Eremanthus erythropappus* (DC) McLeisch. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 89, n. 2, p. 113-116, 2008a.

SOUSA, O. V.; SILVÉRIO, M. S.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G. *et al.* Antinociceptive and

anti-inflammatory effects of the essential oil from *Eremanthus erythropappus* leaves. **Journal**

of Pharmacy and Pharmacology, v. 60, n. 6, p. 771-777, 2008b.

SOUSA-JUNIOR, P. T.; DALLÓGLIO, E. L.; SILVA, L. E. *et al.* Gênero *Acosmium*: composição química e potencial farmacológico. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 1A, p. 150-157, 2009.

SOUZA, J. C.; PICCINELLI, A. C.; AQUINO, D. F. de *et al.* Toxicological analysis and antihyperalgesic, antidepressant, and anti-inflammatory effects of *Campomanesia adamantium* fruit barks. **Nutritional Neuroscience**, 2016.

SOUZA, M. S.; GRAEL, C. F. F. Estudo fitoquímico de plantas do Cerrado: Ensaios com extratos etanólicos de *Peixotoa tomentosa* e *Banisteriopsis oxyclada*. In: **XXVII I Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas – MG, 2014.

SOUZA, R. K. D.; MENDONÇA, A. C. A. M.; SILVA, M. A. P. Aspectos etnobotânicos, fitoquímicos y farmacológicos de espécies de Rubiaceae en Brasil. 2013. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 1, p. 140-156, 2013.

SOUZA, V. A.; NAKAMURA, C. V.; CORRÊA, A. G. Atividade Antichagásica de Lignanas e Neolignanas. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 3, p. 197-207, 2012.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; PALERMO-NETO. **Toxicologia aplicada à Medicina Veterinária**. São Paulo: Manole, v.1, 2008.

SREELATHA, S.; PADMA, P. R.; UMASANKARI, E. Evaluation of anticancer activity of ethanol extract of *Sesbania grandiflora* (Agati Sesban) against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 3, p. 984-987, 2011.

STAERK, D.; LEMMICH, E.; CHRISTENSEN, J. *et al.* Leishmanicidal, antiplasmodial and cytotoxic activity of indole alkaloids from *Corynanthe pachyceras*. **Planta Medica**, v. 66, p. 531-536, 2000.

STEELE, J. C. P.; PHELPS, R. J.; SIMMONDS, M. S. J. *et al.* Two novel assays for the detection of haemin-binding properties of antimalarials evaluated with compounds isolated from medicinal plants. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 50, n. 1, p. 25-31, 2002.

STEINDEL, M.; PACHECO, L.K.; SCHOLL, D. *et al.* Characterization of *Trypanosoma cruzi* isolated from human, vectors, and animal reservoirs following an outbreak of acute human Chagas disease in Santa Catarina State, Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, n. 60, p. 25-32, 2008.

STOVER, C. K.; PHAM, X. Q.; ERWIN, A. L. *et al.* Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. **Nature**, v. 406, n. 6799, p. 959-964, 2000.

STUEHR, D. J.; NATHAN, C. F. Nitric oxide: a macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. **Journal of Experimental Medicine**, v. 169, p. 1543–155, 1989.

SUÁREZ, A; DÍAZ, B.; TILLET, S. *et al.* Leishmanicidal activity of alkaloids from *Hamelia patens*. **Ciencia**, v. 16, n. 2, p. 148-155, 2008.

SUÁREZ, L. E. C.; BARRERA, C. A. C.; BARRERA, E. D. C. *et al.* Actividad antibacteriana de terpenoides y alcaloides aislados de tres plantas colombianas. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 45, n. 2, p. 275-282, 2011.

SUDBERY, P.; GOW, N.; BERMAN, J. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. **Trends in microbiology**, v. 12, n. 7, p. 317-324, 2004.

SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J. M. Assays for cytotoxicity and antitumor activity. **In: Methods in Plant Biochemistry (Ed. Hostettmann K)**, v. 6, chap. 4, p. 71-133. Academic Press, London, 1991.

SULE, W. F.; OKONKO, I. O.; JOSEPH, T. A. *et al.* In vitro antifungal activity of *Senna alata* Linn. crude leaf extract. **Research Journal of Biological Sciences**, v. 5, n. 3, p. 275-284, 2010.

SÜLSEN, V. P.; CAZORLA, S. I.; FRANK, F. M. *et al.* Trypanocidal and leishmanicidal activities of flavonoids from Argentine medicinal plants. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, n. 4, p. 654-659, 2007.

SÜLSEN, V. P.; FRANK, F. M.; CAZORLA, S. I. *et al.* Trypanocidal and leishmanicidal activities of sesquiterpene lactones from Sprengel (Asteraceae). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 7, p. 2415-2419, 2008.

SÜLSEN, V. P.; FRANK, F. M.; CAZORLA, S. I. *et al.* Trypanocidal and leishmanicidal activities of sesquiterpene lactones from *Ambrosia tenuifolia* Sprengel (Asteraceae). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 7, p. 2415-2419, 2013.

SÜLSEN, V.; GUIDA, C.; COUSSIO, J. *et al.* In vitro evaluation of trypanocidal activity in plants used in Argentine traditional medicine. **Parasitology Research**, v. 98, n. 4, p. 370-374, 2006.

SUN, Y.; XU, H. J.; ZHAO, Y. X.; t al. Crocin exhibits antitumor effects on human leukemia HL-60 cells in vitro and in vivo. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

SUNDAR, S. Drug resistance in Indian visceral leishmaniasis. **Tropical Medicine & International Health**, v. 6, n. 11, p. 849-854, 2001.

SUNDAR, S.; MURRAY, H. W. Availability of miltefosine for the treatment of kala-azar in India. **Bull World Health Organ**, v. 83, n.5, 2005.

SVETAZ, L.; TAPIA, A.; LOPEZ, S. N. *et al.* Antifungal chalcones and new caffeic acid esters from *Zuccagnia punctata* acting against soybean infecting fungi. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3297-3300, 2004.

SYLVESTRE, M.; PICHETTE, A.; LONGTIN, A. *et al.* Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 1, p. 99-102, 2006.

TAKEARA, R.; ALBUQUERQUE, S.; LOPES, N. P. *et al.* Trypanocidal activity of *Lychnophora staavioides* Mart.(Vernonieae, Asteraceae). **Phytomedicine**, v. 10, n. 6, p. 490-493, 2003.

TALEB-CONTINI, S. H.; SALVADOR, M. J.; BALANCO, J. M. F. *et al.* Antiprotozoal effect of crude extracts and flavonoids isolated from *Chromolaena hirsuta* (Asteraceae). **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 3, p. 250-254, 2004.

TALEB-CONTINI, S. H.; SALVADOR, M. J.; WATANABE, E. *et al.* Antimicrobial activity of flavonoids and steroids isolated from two *Chromolaena* species. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 4, p. 403-408, 2003.

TATSIMO, S. J. N.; DIEU, T. J.; HAVYARIMANA, L. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activity of kaempferol rhamnoside derivatives from *Bryophyllum pinnatum*. **BMC Research Notes**, v. 5, n. 1, p. 1, 2012.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 3, p. 281-301, 2000.

TELES, A. V. F. F.; FOCK, R. A.; GÓRNIK, S. L. Efeitos crônicos do uso de sementes de *Senna occidentalis* sobre o tecido hematopoiético de ratos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 14, n. 1, p. 91-92, 2016.

TEMPONE, A. G.; BORBOREMA, S. T., ANDRADE, H. F. *et al.* Antiprotozoal activity of Brazilian plant extracts from isoquinoline alkaloid-producing families. **Phytomedicine**, v. 12, n. 5, p. 382-390, 2005.

TEODORO, G. R. **Avaliação da atividade antifúngica dos extratos de *Buchenavia tomentosa* sobre *Candida spp.***. 2011. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal). Universidade Estadual Paulista, 2011.

THAVAMANI, B. S.; MATHEW, M.; DHANABAL, S. P. Anticancer activity of *Cissampelos pareira* against dalton's lymphoma ascites bearing mice. **Pharmacognosy Magazine**, v. 10, n. 39, p. 200, 2014.

TIBAYRENC, M.; AYALA, F.J. Isozyme variability in *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease: genetical, taxonomical, and epidemiological significance. **Evolution**, v. 42, p. 277-292, 1998.

TOLEDO, J.S.; AMBRÓSIO, S. R.; BORGES, C. H. *et al.* In vitro leishmanicidal activities of sesquiterpene lactones from *Tithonia diversifolia* against *Leishmania braziliensis* promastigotes and amastigotes. **Molecules**, v. 19, n. 5, p. 6070-6079, 2014.

TOLEDO, M. J. O.; BAHIA, M. J.; CARNEIRO, M. T. *et al.* Chemotherapy with Benznidazole & Itraconazole for mice infected with different *Trypanosoma cruzi* clonal genotypes. **Ant. Agents & Chem**, v. 47, p. 223-30, 2003.

TOMAZELA, D. M.; PUPO, M. T.; PASSADOR, E. A. Pyrano chalcones and a flavone from *Neoraputia magnifica* and their *Trypanosoma cruzi* glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-inhibitory activities. **Phytochemistry**, v.55, p. 643-651, 2000.

TONG, Q. Y.; HE, Y.; ZHAO, Q. B. *et al.* Cytotoxicity and apoptosis-inducing effect of steroidal saponins from *Dioscorea zingiberensis* Wright against cancer cells. **Steroids**, v. 77, n. 12, p. 1219-1227, 2012.

TOR-ANYIIN, T. A.; SHA'ATO, R.; OLUMA, H. O. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Cissampelos mucronata* a. Rich (Menispermaceae) extracts. **Journal of Pharmacy & Bioresources**, v. 3, n. 2, p. 103-106, 2007.

TOUBAS, D.; DEPAQUIT, J. *Candida famata* est-elle une espèce pathogène?. In: **Annales de biologie clinique**. 2012. p. 623-624.

TRAESEL, G. K.; CASTRO, L. H. A.; SILVA, P. V. B. *et al.* Assessment of the cytotoxic, genotoxic, and mutagenic potential of *Acrocomia aculeata* in rats. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 1, p. 585-596, 2015.

TRAESEL, G. K.; SOUZA, J. C.; BARROS, A. L. *et al.* Acute and subacute (28 days) oral toxicity assessment of the oil extracted from *Acrocomia aculeata* pulp in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 74, p. 320-325, 2014.

TREVISAN, T. C. **Estudo químico-farmacológico das cascas das raízes de *Acosmium dasycarpum* (Vog) Yakovlev**. Cuiabá, 2002 173 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva), Universidade Federal de Mato Grosso, 2002.

TREVISAN, T. C.; SILVA, E. A.; DALL'OGGIO, E. L. *et al.* New quinolizidine and diazaadamantane alkaloids from *Acosmium dasycarpum* (Vog.) Yakovlev—Fabaceae. **Tetrahedron Letters**, v. 49, n. 44, p. 6289-6292, 2008.

TSANG, R. Y.; AL-FAYEA, T.; AU, H.. Cisplatin overdose. **Drug safety**, v. 32, n. 12, p. 1109-1122, 2009.

TSUZUKI, J. K.; SVIDZINSKI, T. I.; SHINOBU, C. S. *et al.* Antifungal activity of the extracts and saponins from *Sapindus saponaria* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 79, n. 4, p. 577-583, 2007.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 2, 2006.

UCHÔA, A. D. A. **Perfil fitoquímico e avaliação da bioatividade: antioxidante e antimicrobiana de extratos de folhas da *Alternanthera brasiliana* (L.) KUNTZE (Amaranthaceae).** 2014. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2014.

UNNI, B. G.; BORAH, A.; WANN, S. B. *et al.* Phytochemical and antibacterial study of traditional medicinal plants of north east India on *Escherichia coli*. **Asian Journal Experimental Sciences**, v. 23, n. 1, p. 103-108, 2009.

URAL, I. O.; KAYAKAR, H.; DURMUSKAHYA, C. *et al.* In vivo Antimalarial Activity of Methanol and Water Extracts of *Eryngium thorifolium* Boiss (Apiaceae Family) against *P. berghei* in Infected Mice. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 8, p. 1313-1317, 2014.

URBINA, J. A.; DOCAMPO, R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. **Trends in parasitology**, v. 19, n. 11, p. 495-501, 2003.

USTA, C.; YILDIRIM, A. B.; TURKER, A. U. Antibacterial and antitumour activities of some plants grown in Turkey. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 28, n. 2, p. 306-315, 2014.

VALLILO, M. I.; BUSTILLOS, O. V.; AGUIAR, O. T. Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de *Campomanesia adamantium* (cambessédes) O. Berg–Myrtaceae. **Revista do Instituto Florestal**, v. 18, n. 1, p. 15-22, 2006.

VANDEPUTTE, P; LARCHER, G.; BERGES, T. *et al.* Mechanisms of azole resistance in a clinical isolate of *Candida tropicalis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 11, p. 4608-4615, 2005.

VARELA, J.; SERNA, E.; TORRES, S. *et al.* In vivo anti-*Trypanosoma cruzi* activity of hydro-ethanolic extract and isolated active principles from *Aristeguietia glutinosa* and mechanism of action studies. **Molecules**, v. 19, n. 6, p. 8488-8502, 2014.

VAZQUEZ-RODRIGUEZ, S.; GUINEZ, R. F.; MATOS, M. J. *et al.* Synthesis and trypanocidal properties of new coumarin-chalcone derivatives. **Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 4, p. 173-177, 2015.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VERDAM, M. C. S.; GUILHON-SIMPLICIO, F.; PAULA, C. D. S. *et al.* Cytotoxicity of *Byrsonima duckeana* WR. Anderson. (Malpighiaceae) on colon cancer cells. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 11, p. 509-510, 2014.

VICHNEWSKI, W.; SKROCHY, C. A.; NASI, A. M. *et al.* 15-Hydroxyeremantholide B and derivatives from *Eremanthus arboreus*. **Phytochemistry**, v. 50, n. 2, p. 317-320, 1999.

VICHNEWSKI, W.; TAKAHASHI, A. M.; NASI, A. M. T. *et al.* Sesquiterpene lactones and other constituents from *Eremanthus seidelii*, *E. goyazensis* and *Vanillosmopsis erythropappa*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 5, p. 1441-1451, 1989.

VICHNEWSKI, W.; WELBANEIDE, F.; MACHADO, L. *et al.* Ereogoyazin and eregoyazidin, two new guaianolides from *Eremanthus goyazensis*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 42, n. 24, p. 3910-3913, 1977.

VIEGAS-JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VIEGAS-JUNIOR, C.; REZENDE, A.; SILVA, D. H. S. *et al.* Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1279-1286, 2006.

VIEIRA, C. A.; CARSOSSO, M. G.; COSTA, A. B. P. B. *et al.* Pesquisa, avaliação do rendimento e atividade antifúngica de óleos essenciais obtidos de plantas medicinais do centro-oeste mineiro. In: **49º Congresso Brasileiro de Química: A Química e a Sustentabilidade, Porto Alegre/RS**, 2009.

VILA VERDE, G. M.; PAULADA, J. R.; CARNEIRO, D. M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do Cerrado utilizadas pela população de Mossamedes (GO). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, V. 13, P. 64-66, 2003.

VILLARREAL, M. L.; ALVAREZ, L.; ALONSO, D. *et al.* Cytotoxic and antimicrobial screening of selected terpenoids from Asteraceae species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 42, n. 1, p. 25-29, 1994.

VIOLANTE, I. M. P.; SOUZA, I. M.; VENTURINI, C. L. *et al.* Estudo preliminar da atividade fotoprotetora in vitro de extratos vegetais do Cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 89, n. 3, p. 175-179, 2008.

VIRIATO, A. Terpenoides com atividade antifúngica para *Candida berkhout*, causadoras de infecções hospitalares. **Mundo Saúde (Impr.)**, v. 38, n. 1, p. 40-50, 2013.

VISAGIE, C. M.; HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J. C. *et al.* Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. **Studies in Mycology**, v. 78, p. 343-371, 2014.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. Metabólitos Secundários Encontrados em Plantas e sua importância. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2010.

WALL, M. E.; WANI, M. C. Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 51, p. 239-254, 1996.

WANG, C. C.; CHEN, L. G.; YANG, L. L.. Antitumor activity of four macrocyclic ellagitannins from *Cuphea hyssopifolia*. **Cancer Letters**, v. 140, n. 1, p. 195-200, 1999.

WANG, M.; GUO, Q.; XU, X. *et al.* New plasmid-mediated quinolone resistance gene, *qnrC*, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 53, n. 5, p. 1892-1897, 2009.

WANG, P.; OWNBY, S.; ZHANG, Z. Z. *et al.* Cytotoxicity and inhibition of DNA topoisomerase I of polyhydroxylated triterpenoids and triterpenoid glycosides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, p. 2790-2796, 2010.

WANG, Y.H.; SAMOYLENKO, V.; TEKWANI, B.L. *et al.* Composition , standardization and chemical profiling of *Banisteriopsis caapi* a plant for the treatment of neurodegenerative disorders relevant to Parkinson's disease. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, n. 3, p. 662-671, 2010.

WANG, Y.; HING, C.; ZHOU, C. *et al.* Screening antitumor compounds psoralen and isopsoralen from *Psoralea corylifolia* L. seeds. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.

WANI, S. H.; AMIN, A.; RATHER, M. A. *et al.* Antibacterial and phytochemical screening of different extracts of five *Iris* species growing in Kashmir. **Journal of Pharmaceutical Education and Research** , v. 5, n. 6, p. 3376-3378, 2012.

WEBER, U. S.; STEFFEN, B.; SIEGERS, C. P. Antitumor-activities of coumarin, 7-hydroxy-coumarin and its glucuronide in several human tumor cell lines. **Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology**, v. 99, n. 2, p. 193-206, 1998.

WET, H. **An ethnobotanical and chemotaxonomic study of South African Menispermaceae**. 2008. Tese de Doutorado. Disponível em: <<https://ujdigispace.uj.ac.za/bitstream/handle/10210/233/Chapter6.pdf?sequence=6>>, 2008.

WHO. World Health Organization. **Câncer**. 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>>. Acesso em: 29 de março de 2016a.

WHO. World Health Organization. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>. Acesso em: 22 de março de 2016a.

WU, C. H.; HSIEH, H. T.; LIN, J. A. *et al.* *Alternanthera paronychioides* protects pancreatic β -cells from glucotoxicity by its antioxidant, antiapoptotic and insulin secretagogue actions. **Food chemistry**, v. 139, n. 1, p. 362-370, 2013.

WUTHI-UDOMLERT, M.; KUPITTAYANANT, P.; GRITSANAPAN, W. In vitro evaluation of antifungal activity of anthraquinone derivatives of *Senna alata*. **Journal Health Research**, v. 24, n. 3, p. 117-122, 2010.

XIE, G. Y.; QIN, X. Y.; LIU, R. *et al.* New isoflavones with cytotoxic activity from the rhizomes of *Iris germanica* L. **Natural Product Research**, v. 27, n. 23, p. 2173-2177, 2013.

XIE, O. W.; CHO, H. J.; CALAYCAY, J. *et al.* Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. **Science**, v. 256, p. 225-228, 1992.

XIONG, Q.; WILSON, W. K.; PANG, J. The Liebermann–Burchard Reaction: Sulfonation, Desaturation, and Rearrangement of Cholesterol in Acid. **Lipids**, v. 42, p. 87-96, 2007.

YAACOB, N. S.; HAMZAH, N.; KAMAL, N. N. N. M. *et al.* Anticancer activity of a sub-fraction of dichloromethane extract of *Strobilanthes crispus* on human breast and prostate cancer cells in vitro. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, n. 42, 2010.

YADAV, J.; ARYA, V.; YADAV, S. *et al.* *Cassia occidentalis* L.: a review on its ethnobotany, phytochemical and pharmacological profile. **Fitoterapia**, v. 81, n. 4, p. 223-230, 2010.

YADAV, P. P.; MAURYA, R.; SARKAR, J. *et al.* Cassane diterpenes from *Caesalpinia bonduc*. **Phytochemistry**, v. 70, n. 2, p. 256-261, 2009.

YAGI, S. M.; TIGANI, S. El; ADAM, S. E. I. Toxicity of *Senna obtusifolia* fresh and fermented leaves (kawal), *Senna alata* leaves and some products from *Senna alata* on rats. **Phytotherapy Research**, v. 12, n. 5, p. 324-330, 1998.

YANG, C.-R.; ZHANG, Y.; JACOB, M. R. *et al.* Antifungal activity of C-27 steroidal saponins. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 5, p. 1710-1714, 2006.

YANG, L. L.; LEE, C. Y.; YEN, K. Y. Induction of apoptosis by hydrolyzable tannins from *Eugenia jambos* L. on human leukemia cells. **Cancer Letters**, v. 157, n. 1, p. 65-75, 2000.

YE, C. L.; LIU, Y.; WEI, D. Z.. Antioxidant and anticancer activity of 3 '-formyl-4', 6 '-

dihydroxy-2'-methoxy-5 '-methylchalcone and (2S)-8-formyl-5-hydroxy-7-methoxy-6-

methylflavanone. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, n. 4, p. 553-559, 2007.

YONG, D.; SHIN, H.B.; KIM, Y.K. *et al.* Increase in the prevalence of carbapenem-resistant *Acinetobacter* isolates and ampicillin-resistant non-typhoidal *Salmonella* species in Korea: a KONSAR study conducted in 2011. **Journal of Infection and Chemotherapy**, vol. 46, pag. 84-93, 2014.

YOUNG, L. S.; MEYER, R. D.; ARMSTRONG, D. *Pseudomonas aeruginosa* vaccine in cancer patients. **Annals of internal medicine**, v. 79, n. 4, p. 518-527, 1973.

YOUNG, R. N. Importance of biodiversity to the modern pharmaceutical industry. **Pure Applied Chemistry**, v. 71, n. 9, p. 1655-1661, 1999.

YOUSEFI, E.; ESKANDARI, A.; JAVAD, M. G. *al.* In vitro activity and cytotoxicity of *Crocus sativus* extract against *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER). **Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)**, v. 14, n. 1, p. 56-60, 2014.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

YURDAKÖK, B.; BAYDAN, E. Cytotoxic effects of *Eryngium kotschyi* and *Eryngium maritimum* on Hep2, HepG2, Vero and U138 MG cell lines. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, n. 12, p. 1579-1585, 2013.

ZANETTI, T. A.; SILVA, M. R. P.; FERREIRA, S. S. *et al.* Atividade citotóxica e mutagênica de extratos de *Pogonopus tubulosus* (A. RICH.) SCHUM (RUBIACEAE), em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. **Anais do ENIC**, v. 1, n. 4, 2015.

ZHANG, H.; ZHANG, M.; YU, L. *et al.* Antitumor activities of quercetin and quercetin-5', 8-disulfonate in human colon and breast cancer cell lines. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1589-1599, 2012.

ZHANG, Z.; LI, S.; OWNBY, S. *et al.* Phenolic compounds and rare polyhydroxylated triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 10, p. 2070-2080, 2008.

ZHAO, F.; MAI, Q.; MA, J. *et al.* Triterpenoids from *Inonotus obliquus* and their antitumor activities. **Fitoterapia**, v. 101, p. 34-40, 2015.

ZHAO, X.; WANG, Q.; QIAN, Y. *et al.* *Cassia tora* L.(Jue-ming-zi) has anticancer activity in TCA8113 cells in vitro and exerts anti-metastatic effects in vivo. **Oncology Letters**, v. 5, n. 3, p. 1036-1042, 2013.

ZULETA, L. M. C.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA, D. H. S. *et al.* seco-Iridoids from *Calycophyllum spruceanum* (Rubiaceae). **Phytochemistry**, v. 64, n. 2, p. 549-553, 2003.

ANEXO A



Número do Processo: 010478/2015-9
Nome: Cristiane Fernanda Fuzer Graef
Data Envio: 16/06/2015 15:19:34
Sector: COAPG/DABS
CA: 68

IDENTIFICAÇÃO - PROJETO

NÚMERO DO PROCESSO	LINHA DE FOMENTO/CHAMADA
010478/2015-9	Patrimônio Genético / Autorização de Acesso ao PG (Pesquisa Científica)
COMITÊ ASSESSOR	
68 - PROGRAMA DE BIODIVERSIDADE	
ÁREA DE CONHECIMENTO	
Farmacognosia	
MODALIDADE CONTRATAÇÃO	CA DE JULGAMENTO
Individual	68 - PROGRAMA DE BIODIVERSIDADE

DADOS DO SOLICITANTE

PROPONENTE	CPF	TITULAÇÃO MÁXIMA
Cristiane Fernanda Fuzer Graef	130.801.108-38	Doutorado
DATA DE NASCIMENTO	SEXO	E-MAIL
28/09/1968	Feminino	cgrael@hotmail.com
END RESIDENCIAL	TELEFONE RESIDENCIAL	NACIONALIDADE
Rua Alexandrita, 114 - Diamantina MG	38 - 35311638	Brasileiro
FAX		
INSTITUIÇÃO PROPONENTE		
UFVJM - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - Campus JK (Rodovia MGT 367 - Km 583, nº 5000 Diamantina) reitoria@ufvjm.edu.br		
ÁREA DE ATUAÇÃO DO PROPONENTE		
- Ciências da Saúde/Farmacognosia - Ciências da Saúde/Química de Produtos Naturais		

INSTITUIÇÕES - PROJETO

FUNÇÃO	NOME
Executora/Sede	UFVJM - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - Campus Mucuri
Acesso da Amostra	UFVJM - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - Campus JK

DADOS GERAIS - PROJETO

TÍTULO		
Estudo fitoquímico e avaliação de atividades biológicas de espécies vegetais do Cerrado		
SIGLA	DATA DE INÍCIO	DURAÇÃO
	01/02/2016	36 mês(es)
PALAVRAS CHAVE		HOME PAGE DO PROJETO
Fitoquímica; Produtos naturais; Ensaios biológicos; Cerrado;		
RESUMO NÃO SIGILOSO		
<p>O Cerrado abriga uma vasta diversidade de plantas, especialmente medicinais, que apresentam escassos estudos científicos sobre sua composição química e sobre suas atividades biológicas ou comprovação de suas atividades farmacológicas. Dessa forma, esse projeto visa realizar estudos fitoquímicos e ensaios biológicos com materiais obtidos de vegetais nativos do Cerrado (região de Diamantina/MG), em especial, de vegetais com uso medicinal popular. Serão extraídos óleos essenciais (quando se tratar de espécie aromática) e serão preparados extratos orgânicos, hidroalcoólicos e aquosos, obtidos de partes aéreas de</p>		

vegetais selecionados para o estudo. Para a seleção das espécies serão levados em consideração: escassez de estudos científicos publicados, presença de suas populações no Campus JK/UFVJM, uso medicinal popular e que sejam espécies que não se encontram nas listas oficiais de espécies em risco de extinção. Os estudos fitoquímicos serão realizados através de técnicas clássicas (CCDC, ensaios cromogênicos e de precipitação, fitoquímica clássica com isolamento e identificação de substâncias por meio de RMN, IV, UV-Vis, EM) e de técnicas mais modernas e automatizadas (CG-EM, CG-DIC, CLAE-DAD, CLAE-EM). Quanto aos ensaios biológicos, serão realizados com extratos, óleos essenciais e substâncias purificadas (quando possível). Os ensaios biológicos visam detectar algumas atividades, sendo que, parte delas podem se relacionar ao uso medicinal popular das plantas. Os ensaios a serem realizados são para detectar potencial antioxidante, alelopático (herbicida ou fertilizante), antimicrobiano, antiprotzoário, inseticida ou repelente de inseto, farmacológico (espasmolítico) e tóxico. Algumas espécies deste projeto já tem extratos mantidos ex situ (fiel depositário ? Herbário DIAM/UFVJM); se necessário, poderão ser utilizadas amostras desses extratos para a execução do projeto. Observação: Trata-se de pesquisa científica básica, cujas maiores metas são: formar recursos humanos capacitados (mestres e graduados) e conhecer um pouco mais da flora nativa local, quanto a sua química e quanto as suas potenciais atividades biológicas. Para o estudo poderão ser utilizados extratos e óleos essenciais depositados em extratoteca (banco de extratos) da UFVJM.

OBJETIVO

Realizar estudos fitoquímicos e avaliação de diferentes atividades biológicas de plantas nativas do Cerrado de Diamantina (MG).

INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES - BIODIVERSIDADE

TIPO

- Acesso
- Coleta

COMPONENTES DO PATRIMÔNIO GENÉTICO A SEREM ACESSADOS (GRUPOS TAXONÔMICOS):

Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Arecaceae), Ageratum fastigiatum (Gardner) R.M. King & H. Rob. (Asteraceae), Acosmium dasycarpum (Vogel) Yakovlev (Fabaceae), Banisteriopsis oxyclada (A. Juss.) B. Gates (Malpighiaceae), Blepharocalyx salicifolius (Kunth) O. Berg (Myrtaceae), Byrsonima macrophylla (Pers.) W.R. Anderson (Malpighiaceae), Campomanesia adamantium (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae), Caryocar brasiliense Camb (Caryocaraceae), Casearia sylvestris Sw. (Salicaceae), Croton antisiphiliticus Mart. e Croton campestris A. St.-Hil. (Euphorbiaceae), Eryngium horridum Malme (Apiaceae), Erythroxylum suberosum A. St.-Hil. (Erythroxylaceae), Jacaranda caroba (Vell.) A. DC. (Bignoniaceae), Jatropha curcas L. (Euphorbiaceae), Lafoensia densiflora L. (Lythraceae), Pseudobrickellia brasiliensis R.M. King & H. Rob. (Spreng.) (Asteraceae) e Trimezia cathartica (Klatt) Niederl. (Iridaceae).

INDICAR PREVISÃO DE COLETA DE ESPÉCIES AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO DE ENDEMISMO ESTRITO (IDENTIFICAR ESPÉCIES):

não se aplica

TIPO / QUANTIDADE DE AMOSTRA			REQUER SIGILO DE ALGUMA INFORMAÇÃO	
Tipo: Partes aéreas. Quantidade: aproximadamente 500 a 700g.			Não	
LOCALIZAÇÕES DE COLETA				
UF	MUNICÍPIO	LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA	ÁREA	COLETA
MG	Diamantina	18° 14' 56" S 43° 36' 00" O	Pública	in situ

FIEL DEPOSITÁRIA

INSTITUIÇÃO

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - Campus JK

COLEÇÃO

Herbário DIAM

FONTES DE FINANCIAMENTOS

NOME	VALOR	PROCESSO
FAPEMIG - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais	36.000,00	em análise pela FAPEMIG
UFVJM - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - Campus JK	4.000,00	recursos PROAPE e PRPPG

ÁREAS DO CONHECIMENTO - PROJETO

Farmacognosia
Química dos Produtos Naturais

DOCUMENTOS ANEXOS

Projeto de Pesquisa http://anexosform.cnpq.br/doc/Biodiversidade/2/2301544365917271_01.pdf

EQUIPE - PROJETO				
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
Cristiane Fernanda Fuzer Graef	Coordenador	Doutorado	- Ciências da Saúde/Farmacognosia - Ciências da Saúde/Química de Produtos Naturais	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
130.801.108-38	28/09/1968	Brasil	cgrael@hotmail.com	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
Ana Paula Rodrigues	Colaborador	Doutorado	- Ciências da Saúde/Ciências da Saúde - Ciências da Saúde/Análises Clínicas - Ciências da Saúde/Bioquímica - Ciências da Saúde/Enzimologia - Ciências da Saúde/Hematologia	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
251.568.698-23	22/12/1974	Brasil	rodrigues_ap@yahoo.com.br	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
Ricardo Andrade Barata	Colaborador	Doutorado	- Ciências Biológicas/Eco-epidemiologia das leishmanioses - Ciências Biológicas/Sistemática de flebotomíneos - Ciências Biológicas/Ecologia Aplicada - Ciências Biológicas/Parasitologia - Ciências da Saúde/Bioprodutos e suas aplicações no controle de vetores de doenças	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
003.630.336-45	08/05/1974	Brasil	ricbarata@hotmail.com	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
Sebastião Lourenço de Assis Júnior	Colaborador	Doutorado	- Ciências Agrárias/Proteção Florestal	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
520.896.576-34	12/01/1963	Brasil	assisjr@ufvjm.edu.br	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
Sérgio Ricardo Stuckert Seixas	Colaborador	Doutorado	- Ciências Biológicas/Farmacologia Cardiorrenal - Ciências Biológicas/Farmacologia Bioquímica e Molecular - Ciências Biológicas/Metabolismo de Peptídeo - Ciências da Saúde/Assistência Farmacêutica - Ciências da Saúde/Avaliação Toxicológica	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
535.232.454-00	02/11/1966	Brasil	sergio.stuckert@ufvjm.edu.br	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	

Thiago José Ornelas Otoni	Técnico	Mestrado		
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
069.841.806-94	12/10/1984	Brasil	tj.otoni@gmail.com	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
Andréa Renata Malagutti	Colaborador	Doutorado	- Ciências Exatas e da Terra/Química Analítica - Ciências Exatas e da Terra/Eletoanalítica - Ciências Exatas e da Terra/Fotocatálise e Fotoeletrocatalise	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
025.830.369-71	18/09/1976	Brasil	deamalagutti@gmail.com	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
Helen Rodrigues Martins	Colaborador	Doutorado	- Ciências Biológicas/Protozoologia de Parasitos - Ciências Biológicas/Biologia Molecular - Ciências Biológicas/Genética Molecular e de Microorganismos	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
034.082.986-96	19/01/1977	Brasil	helen.rmartins@gmail.com	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
Fabiane Nepomuceno da Costa	Colaborador	Doutorado	- Ciências Biológicas/Taxonomia de Fanerógamos - Ciências Biológicas/Morfologia Externa	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
189.752.668-77	03/04/1975	Brasil	fncosta@hotmail.com	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
Fernando Costa Archanjo	Colaborador	Doutorado	- Ciências Exatas e da Terra/Síntese Orgânica - Ciências Exatas e da Terra/Compostos Organo-Metálicos - Ciências Exatas e da Terra/Química dos Produtos Naturais	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
409.804.052-20	08/12/1972	Brasil	archanjofc@hotmail.com	Brasileiro

DECLARAÇÃO

Ao encaminhar este formulário ao CNPq o solicitante, na qualidade de Coordenador do Projeto, declara formalmente ter conhecimento da Convenção sobre Diversidade Biológica, da Medida Provisória n.º 2.186-16/2001, dos Decretos n.º 3.945/2001 e n.º 4.946/2003, das deliberações do CGEN e dos requisitos do CNPq (disponível em [Resolução Normativa CNPq nº003/2012](#)). Declara, também, concordar com o [Termo de Compromisso](#) e que a presente solicitação de Autorização de Acesso e/ou Remessa de Amostra de Componente do Patrimônio Genético é única e exclusivamente para fins de pesquisa científica, estando ciente que o descumprimento das condições aqui estabelecidas sujeita o infrator às sanções previstas na legislação vigente.

(Declaração feita em observância aos artigos 297-301 do [Código Penal Brasileiro](#)).

NOME

CPF

Cristiane Fernanda Fuzer Graef

130.801.108-38

Declaração registrada eletronicamente através da internet junto ao CNPq, mediante uso de senha pessoal do solicitante em 16/06/2015 15:19:34, sob o número de protocolo 2301544365917271



9589769408003475

AUTORIZAÇÃO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO PARA FINS DE PESQUISA CIENTÍFICA nº 010832/2014-9

O CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO - CNPq, credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), por meio da Deliberação CGEN nº 246, de 27 de agosto de 2009, para autorizar instituições nacionais, públicas ou privadas, que exerçam atividades de pesquisa e desenvolvimento nas áreas biológicas e afins, a acessar e remeter amostras de componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica sem potencial de uso econômico, neste ato representado pelo seu Diretor de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde, nos termos da Portaria CNPq nº 513/2013, autoriza a instituição abaixo qualificada a acessar e remeter amostras de componentes do patrimônio genético.

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI - CAMPUS JK - UFVJM

CNPJ: 168.883.150/0001-57

Representante Legal: HELEN RODRIGUES MARTINS

Cargo/Função: Diretora de Pesquisa

CPF: 034.082.986-96 **RG:** M9179920

Projeto: Caracterização química avaliação do potencial biológico de Plantas Nativas da Região de Diamantina ? MG (Vale do Jequitinhonha)

Coordenador do Projeto: Helen Rodrigues Martins

CPF: 034.082.986-96 **RG:** M9179920 - SSP / MG

Finalidade do projeto: Entre os vários estratégias disponíveis para a descoberta de novas drogas, mais efetivas, menos tóxicas e seletivas, avaliação de plantas (medicinais ou não) é uma estratégia bastante promissora (Young, 1999). O Brasil apresenta cerca de 50 mil espécies de plantas, que corresponde a um sexto de todas as espécies do planeta (MYERS et al., 2000) e a biodiversidade brasileira constitui um dos maiores tesouros da nação. Por outro lado, muitas espécies estão desaparecendo em um ritmo consideravelmente maior do que a identificação e a avaliação do potencial químico e terapêutico destas, devido à poluição das águas e do solo e a devastação de áreas para a pecuária e/ou agricultura e mineração (CORRÊA et al., 1998). Assim sendo, o país necessita de maiores investimentos em pesquisas com plantas medicinais. Diante da biodiversidade brasileira, destaca-se o cerrado que é a segunda maior área de plantas nativas do país (GUARIM NETO & MORAIS, 2003), constituindo uma das maiores áreas de diversidade vegetal (23% do território nacional), apresentando cerca de 10.000 espécies vegetais, sendo 4.400 consideradas endêmicas, o que corresponde 1,5% das plantas do planeta, inserindo esse bioma entre os seis "hotspots" mundiais, que são prioritários para a conservação (MYERS et al., 2000). Os estudos de plantas medicinais do cerrado são escassos, principalmente considerando-se a área ocupada e a diversidade. Neste contexto, este projeto prevê a coleta de plantas nativas da região de Diamantina (MG), sua identificação, a elaboração dos extratos e a determinação do perfil fitoquímico construído a partir de análises de reações cromogênicas e de precipitação, cromatografia em camada delgada comparativa e aplicação de técnicas hifenadas (CLAE-DAD-EM, CLAE-DAD-EM/EM e CG-EM) conduzidos sobre os extratos das espécies. Assim como o fracionamento cromatográfico, com vistas ao isolamento e identificação dos metabólitos majoritários presentes nos extratos das espécies que apresentarem maior atividade frente ao testes antiparasitários, se propõe isolamento e identificação estrutural de metabólitos secundários, de duas espécies que apresentarem extratos com alta atividade biológica.

Amostras a serem acessadas:

Grupos Taxonômicos: Gêneros: Acosmium, Acrocomia, Agarista, Ageratum, Agonandra, Averrhoidium, Byrsonima, Callisthene, Cayaponia, Campomanesia, Chomelia, Chrysophyllum, Croton, Davilla, Diospyros, Enterolobium, Eremanthus, Eriotheca, Eriosema, Eryngium, Erythroxylum, Gomphrena, Guapira, Himatanthus, Hirtella, Hyptis, Jacaranda, Kielmeyera, Lafoensia, Lafoensia, Luehea, Marlierealae, Miconia, Myrcia, Myrsine, Norantea, Pera, Pseudobombax, Pseudobrickellia, Qualea, Remijia, Schefflera, Senna, Trimezia, Vochysia

Tipo de material/quantidade de amostras: 0,5 kg de flores; 0,5 kg de frutos/sementes e 2,0 kg de folhas para cada espécie

Local de depósito de subamostra: Herbário DIAM

Equipe do projeto: HELEN RODRIGUES MARTINS / CPF 034.082.986-96

LUIZ ELIDIO GREGORIO / CPF 267.891.418-63

CRISTIANE FERNANDA FUZER GRAEL / CPF 130.801.108-38

CARLOS VICTOR MENDONCA FILHO / CPF 584.753.546-53

FABIANE NEPOMUCENO DA COSTA / CPF 189.752.668-77
 KELLY CRISTINA KATO / CPF 051.303.076-07
 PATRICIA MACHADO DE OLIVEIRA / CPF 033.877.696-60
 EVANDRO LUIZ MENDONCA MACHADO / CPF 289.457.908-02
 ANA PAULA RODRIGUES / CPF 251.568.698-23
 GUSTAVO EUSTAQUIO BRITO ALVIM DE MELO / CPF 910.052.486-72
 FERNANDA FRAGA CAMPOS / CPF 013.448.056-20

Validade da Autorização: 01/01/2015 a 01/01/2018

A instituição acima qualificada deverá enviar ao CNPq, por meio do Coordenador do Projeto, relatório anual sobre o andamento do projeto de pesquisa, nos termos do Decreto nº. 4.946/2003. O roteiro para confecção do relatório está disponível em <http://www.cnpq.br/web/guest/relatorio-de-atividades>. Os relatórios devem ser enviados ao CNPq em meio eletrônico, para o endereço apg@cnpq.br e, preferencialmente, em formato .pdf.

Esta autorização está vinculada às informações, declarações e termos de compromisso firmados pelo coordenador do projeto e pelo representante legal, constantes do Processo nº 010832/2014-9. Atividades de acesso aos conhecimentos tradicionais associados, de acesso e de remessa de componente do patrimônio genético com finalidade comercial, aplicação industrial, bioprospecção ou desenvolvimento tecnológico não estão autorizadas.

Caso seja identificado uso econômico de produto ou processo, passível ou não de proteção intelectual, originado das amostras de componente do patrimônio genético acessado no âmbito desta autorização, a instituição beneficiada se compromete a adotar as providências cabíveis, nos termos da legislação vigente, junto ao CGEN/MMA.

Se ocorrer coleta de espécie não autorizada ou não identificada, deverá ser observado o que consta no Decreto nº 6.514, de 22/07/2008, no que refere à flora e fauna, e em particular sobre espécies ameaçadas de extinção ou de endemismo estrito.

A remessa de amostra de componente do patrimônio genético deverá ser precedida da assinatura do Termo de Transferência de Material (TTM) ou do Termo de Responsabilidade para Transporte de Amostra de Componente do Patrimônio Genético (TRTM). A remessa para instituições nacionais está isenta de autorização prévia. Contudo, a remessa para instituições sediadas no exterior depende de autorização prévia do CNPq, nos termos das resoluções do CGEN 15/2004 e 20/2006. Os modelos dos termos, assim como as citadas resoluções, estão disponíveis em <http://www.cnpq.br/web/guest/remessa-e-transporte> e devem ser enviados ao CNPq em meio eletrônico para o endereço apg@cnpq.br, preferencialmente em formato .pdf. Ainda, para a remessa de componente do patrimônio genético para instituição sediada no exterior, deverá ser solicitada ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, por meio de formulário específico e mediante a apresentação de TTM ou TRTM, licença de exportação complementar a autorização de remessa, especialmente quando se tratar de remessa de espécies constantes nos Anexos da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (Cites).

Brasília, 12 de Novembro de 2014

Marcelo Marcos Morales

Diretor de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde

Para visualizar a versão digital da Autorização de Acesso e de Remessa de Amostra de Componente do Patrimônio Genético, V.Sa. poderá utilizar a ferramenta disponibilizada pelo CNPq para esse fim na página <http://servicosweb.cnpq.br/visualizador/> e informar o número do protocolo 9589769408003475 para recuperá-la do banco de dados do CNPq, ou poderá selecionar o arquivo salvo em seu computador (em formato PKCS7). V.Sa. pode também usar outro aplicativo disponível no mercado capaz de reconhecer arquivos no padrão PKCS7 para fazer a visualização e extração do documento.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 48705-2	Data da Emissão: 30/03/2016 09:26	Data para Revalidação*: 29/04/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Cristiane Fernanda Fuzer Graef	CPF: 130.801.108-38
Título do Projeto: Estudo fitoquímico e avaliação de atividade antioxidante de plantas medicinais do cerrado	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI	CNPJ: 16.888.315/0001-57

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	preparação de extratos e óleos	02/2016	06/2016
2	coleta, preparação de exsiccatas e identificação	02/2016	01/2017
3	estudos fitoquímicos	06/2016	12/2017
4	ensaios de atividade antioxidante	06/2016	12/2017

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	DIAMANTINA	MG	Campus JK/UFVJM	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	Acosmium dasycarpum, Banisteriopsis oxycyclada, Croton campestris, Croton antisiphiliticus, Plantae, Trimezia cathartica, Lafaensia densiflora, Pseudobrickellia brasiliensis, Lychophora tomentosa, Angiospermae

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 73969298



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 48705-2	Data da Emissão: 30/03/2016 09:26	Data para Revalidação*: 29/04/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Cristiane Fernanda Fuzer Graef	CPF: 130.801.108-38
Título do Projeto: Estudo fitoquímico e avaliação de atividade antioxidante de plantas medicinais do cerrado	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI	CNPJ: 16.888.315/0001-57

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Plantas)	Óleos/Resinas/Látex, Folhas
2	Método de captura/coleta (Plantas)	Coleta manual

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI	coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 73969298



Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 48705-2	Data da Emissão: 30/03/2016 09:26	Data para Revalidação*: 29/04/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Cristiane Fernanda Fuzer Graef	CPF: 130.801.108-38
Título do Projeto: Estudo fitoquímico e avaliação de atividade antioxidante de plantas medicinais do cerrado	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI	CNPJ: 16.888.315/0001-57

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data


* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 73969298



Página 3/3

 <p>Autorização de Acesso e de Remessa de Componente do Patrimônio Genético</p> <p>O Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, nos termos Deliberação 246/2009, do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, autoriza a instituição identificada no verso deste documento a acessar e remeter componente do Patrimônio Genético com a finalidade de pesquisa científica.</p> <p>Brasília, 24 de Outubro de 2014</p> <p>Marcelo Marcos Morales Diretor de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde PO 161/2010</p>	<p>Processo: 010773/2014-2 Validade: 22/09/2014 a 22/09/2015 Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI - CAMPUS JK CNPJ: 168.883.150/0001-57 Pesquisador: Cristiane Fernanda Fuzer Graef CPF: 130.801.108-38 RG: 21280822 - SSP / SP</p> <p><i>Para visualizar a versão digital da Autorização de Acesso e de Remessa de Componente do Patrimônio Genético, V.Sa. poderá utilizar a ferramenta disponibilizada pelo CNPq para esse fim na página</i> http://servicosweb.cnpq.br/visualizador/ e informar o número do protocolo 1698476236877635 para recuperá-la do banco de dados do CNPq</p>
--	---



3604950517686048

AUTORIZAÇÃO DE ACESSO E DE REMESSA DE AMOSTRA DE COMPONENTE DO PATRIMÔNIO GENÉTICO nº 010773/2014-2

O CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO - CNPq, credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), por meio da Deliberação CGEN nº 246, de 27 de agosto de 2009, para autorizar instituições nacionais, públicas ou privadas, que exerçam atividades de pesquisa e desenvolvimento nas áreas biológicas e afins, a acessar e remeter amostras de componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica sem potencial de uso econômico, neste ato representado pelo seu Diretor de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde, nos termos da Portaria CNPq nº 104/2011, autoriza a instituição abaixo qualificada a acessar e remeter amostras de componentes do patrimônio genético.

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI - CAMPUS JK - UFVJM

CNPJ: 168.883.150/0001-57

Representante Legal: HELEN RODRIGUES MARTINS

Cargo/Função: Diretora de Pesquisa

CPF: 034.082.986-96 **RG:** M9179920

Projeto: Estudo fitoquímico e avaliação de atividade antioxidante de plantas medicinais do Cerrado

Coordenador do Projeto: Cristiane Fernanda Fuzer Graef

CPF: 130.801.108-38 **RG:** 21280822 - SSP / SP

Finalidade do projeto: Este projeto prevê a pesquisa científica básica, sem finalidade comercial ou lucrativa. A execução do projeto envolverá a formação de recursos humanos: mestres e graduados em Farmácia. O projeto prevê o estudo fitoquímico e a avaliação antioxidante de extratos de oito plantas medicinais nativas do cerrado e utilizadas na região de Diamantina (MG). Observação: o projeto foi submetido a EDITAL da FAPEMIG para pleitear orçamento.

Amostras a serem acessadas:

Grupos Taxonômicos: *Acosmium dasycarpum* (Vogel) Yakovlev, *Banisteriopsis oxyclada* (A. Juss.) B. Gates, *Croton antispylliticus* Mart., *Croton campestris* A. St.-Hil., *Lafoensia densiflora* L., *Lychnophora tomentosa* (Mart. ex DC.) Sch. Bip., *Pseudobrickellia brasiliensis* R.M. King & H. Rob. (Spreng.), *Trimezia cathartica* (Klatt) Niederl.

Tipo de material/quantidade de amostras: Folhas. Aproximadamente 300 a 500 gramas.

Local de depósito de subamostra: Herbário DIAM

Equipe do projeto: CRISTIANE FERNANDA FUZER GRAEL / CPF 130.801.108-38

ANA PAULA RODRIGUES / CPF 251.568.698-23

ANDREA RENATA MALAGUTTI / CPF 025.830.369-71

FABIANE NEPOMUCENO DA COSTA / CPF 189.752.668-77

RUBIA REGINA GONCALVES SIVIERI / CPF 200.533.178-31

Validade da Autorização: 22/09/2014 a 22/09/2015

A instituição acima qualificada deverá enviar ao CNPq, por meio do Coordenador do Projeto, relatório anual sobre o andamento do projeto de pesquisa, nos termos do Decreto nº. 4.946/2003. O roteiro para confecção do relatório está disponível em <http://www.cnpq.br/web/guest/relatorio-de-atividades>. Os relatórios devem ser enviados ao CNPq em meio eletrônico, para o endereço apg@cnpq.br e, preferencialmente, em formato .pdf.

Esta autorização está vinculada às informações, declarações e termos de compromisso firmados pelo coordenador do projeto e pelo representante legal, constantes do Processo nº 010773/2014-2. Atividades de acesso aos conhecimentos tradicionais associados, de acesso e de remessa de componente do patrimônio genético com finalidade comercial, aplicação industrial, bioprospecção ou desenvolvimento tecnológico não estão autorizadas.

Caso seja identificado uso econômico de produto ou processo, passível ou não de proteção intelectual, originado das amostras de componente do patrimônio genético acessado no âmbito desta autorização, a instituição beneficiada se

compromete a adotar as providências cabíveis, nos termos da legislação vigente, junto ao CGEN/MMA.

Se ocorrer coleta de espécie não autorizada ou não identificada, deverá ser observado o que consta no Decreto nº 6.514, de 22/07/2008, no que refere à flora e fauna, e em particular sobre espécies ameaçadas de extinção ou de endemismo estrito.

A remessa de amostra de componente do patrimônio genético deverá ser precedida da assinatura do Termo de Transferência de Material (TTM) ou do Termo de Responsabilidade para Transporte de Amostra de Componente do Patrimônio Genético (TRTM). A remessa para instituições nacionais está isenta de autorização prévia. Contudo, a remessa para instituições sediadas no exterior depende de autorização prévia do CNPq, nos termos das resoluções do CGEN 15/2004 e 20/2006. Os modelos dos termos, assim como as citadas resoluções, estão disponíveis em <http://www.cnpq.br/web/guest/remessa-e-transporte> e devem ser enviados ao CNPq em meio eletrônico para o endereço apg@cnpq.br, preferencialmente em formato .pdf. Ainda, para a remessa de componente do patrimônio genético para instituição sediada no exterior, deverá ser solicitada ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, por meio de formulário específico e mediante a apresentação de TTM ou TRTM, licença de exportação complementar a autorização de remessa, especialmente quando se tratar de remessa de espécies constantes nos Anexos da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (Cites).

Brasília, 24 de Outubro de 2014

Marcelo Marcos Morales

Diretor de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde

Para visualizar a versão digital da Autorização de Acesso e de Remessa de Amostra de Componente do Patrimônio Genético, V.Sa. poderá utilizar a ferramenta disponibilizada pelo CNPq para esse fim na página <http://servicosweb.cnpq.br/visualizador/> e informar o número do protocolo 3604950517686048 para recuperá-la do banco de dados do CNPq, ou poderá selecionar o arquivo salvo em seu computador (em formato PKCS7). V.Sa. pode também usar outro aplicativo disponível no mercado capaz de reconhecer arquivos no padrão PKCS7 para fazer a visualização e extração do documento.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 43365-2	Data da Emissão: 25/03/2014 11:26	Data para Revalidação*: 24/04/2015
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Cristiane Fernanda Fuzer Graef	CPF: 130.801.108-38
Título do Projeto: Estudo fitoquímico e avaliação de atividade antioxidante de plantas medicinais do cerrado	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI	CNPJ: 16.888.315/0001-57

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	coleta das folhas dos vegetais	01/2015	02/2015
2	secagem das folhas e preparação dos extratos	01/2015	02/2015
3	estudo fitoquímico dos extratos	03/2015	10/2016
4	obtenção e análise dos óleos essenciais	07/2015	10/2015
5	ensaios antioxidantes com extratos	04/2016	11/2016
6	redação de relatório e artigo científico	11/2016	12/2016

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	DIAMANTINA	MG	Campus JK- Área destinada a pesquisa e ensino - UFVJM	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	Lychophora tomentosa, Acosmium dasycarpum, Lafaensia densiflora, Banisteriopsis oxyclada, Croton antisiphiliticus, Trimezia cathartica, Pseudobrickerella brasiliensis, Croton campestris

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 54722862



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 43365-2	Data da Emissão: 25/03/2014 11:26	Data para Revalidação*: 24/04/2015
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Cristiane Fernanda Fuzer Graef	CPF: 130.801.108-38
Título do Projeto: Estudo fitoquímico e avaliação de atividade antioxidante de plantas medicinais do cerrado	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI	CNPJ: 16.888.315/0001-57

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Plantas)	Folhas
2	Método de captura/coleta (Plantas)	Coleta manual

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI	coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 54722862



Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 43365-2	Data da Emissão: 25/03/2014 11:26	Data para Revalidação*: 24/04/2015
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Cristiane Fernanda Fuzer Graef	CPF: 130.801.108-38
Título do Projeto: Estudo fitoquímico e avaliação de atividade antioxidante de plantas medicinais do cerrado	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI	CNPJ: 16.888.315/0001-57

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 54722862



Página 3/3

Observação: Algumas espécies botânicas não constam nessa autotização, pois está sendo aguardado a plataforma para cadastro eletrônico de registro das atividade de acesso ao patrimônio genético de acordo com a lei nº 13.123/2015 de 17/11/2015.

ANEXO B

Tabela 1: Resultados da triagem fitoquímica preliminar dos extratos etanólico das espécies vegetais avaliadas.

Espécies	Parte utilizada	Triagem Fitoquímica Preliminar						
		Alcalóides	Antraquinona	Cumarinas	(Esteróide e Terpenos)	Flavonóides	Saponinas	Taninos
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	(+)	(+)	—	(+)	(+)	—	(+)
<i>Acrocomia aculeata</i>	Folhas	—	—	(+)	—	(+)	—	(+)
<i>Alternanthera sp.</i> Forssk	Folhas	—	—	—	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	—	—	—	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Campomanesia</i>	Folhas	—	—	—	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	—	—	—	(+)	(+)	—	(+)
	Raiz	(+)	—	—	(+)	(+)	—	(+)
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	—	(+)	—	(+)	(+)	—	(+)
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	—	—	—	(+)	—	(+)	(+)
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	(+)	—	(+)	(+)	—	(+)	(+)
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	—	—	—	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	—	(+)	—	(+)	(+)	—	(+)
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	—	—	—	—	(+)	—	(-)

(+) Resultado positivo para a pesquisa do metabólito; (-) Resultado negativo para a pesquisa do metabólito. Partes aéreas: galhos e folhas

Tabela 2: Resultados da avaliação da atividade antibacteriana dos extratos etanólicos sobre bactérias através do método de microdiluição em placa, avaliado pelo método colorimétrico da resazurina.

Espécies	Partes utilizadas	Concentração inibitória mínima (ug/mL)			
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25931	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29313
<i>Acrocomia aculeata</i>	Folhas	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>Alternanthera</i> Forssk.	Folhas	*	*	*	*
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	> 1000	> 1000	1000 (bactericida)	> 1000
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Raiz	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
	Partes aéreas	*	*	*	*
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	> 1000	> 1000	250 (bactericida)	1000 (bactericida)
<i>Senna Rugosa</i>	Folhas	> 1000	> 1000	> 1000	500(bacteriostática)
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000

Os resultados representam a avaliação de três experimentos independentes realizados em triplicata; (*) extratos destas espécies vegetais não puderam ser avaliados, devido sua reação com resazurina; Partes aéreas: galhos e folhas.

Tabela 3: Resultados da avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos sobre fungos através do método de microdiluição em placa, avaliado pelo método colorimétrico da resazurina.

Espécies	Partes utilizadas	Concentração inibitória mínima (ug/mL)					
		<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	<i>Candida famata</i> ATCC 62894	<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	<i>Candida tropicalis</i> ATCC 28707	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 10535	<i>Penicillium expansum</i> ATCC 1117
<i>Acrocomia aculeata</i>	Folhas	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	1000 (fungistático)	500 (fungicida)	125 (fungistático)	250 (fungistático)	>1000	>1000
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	15,6 (fungistático)	31,25 (fungistático)	62,5 (fungistático)	62,5 (fungistático)	>1000	>1000
<i>Alternanthera</i> Forssk	Folhas	*	*	*	*	*	*
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	31,25 (fungistático)	62,5 (fungistático)	62,5 (fungistático)	125 (fungistático)	>1000	>1000
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Raiz	500 (fungistático)	500 (fungistático)	1000 (fungistático)	500 (fungistático)	>1000	>1000
	Partes aéreas	*	*	*	*	*	*
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	1000 (fungistático)	>1000	250 (fungistático)	500 (fungistático)	>1000	>1000
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	>1000	1000 (fungicida)	500 (fungistático)	>1000	>1000	>1000
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	31,25 (fungistático)	15,6 (fungistático)	31,25 (fungistático)	62,5 (fungistático)	>1000	>1000
<i>Senna Rugosa</i>	Folhas	>1000	62,5 (fungistático)	62,5 (fungistático)	125 (fungistático)	>1000	>1000
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000

Os resultados representam a avaliação de três experimentos independentes realizados em triplicata; (*) extratos destas espécies vegetais não puderam ser avaliados, devido sua reação com resazurina; Partes aéreas: galhos e folhas.

Tabela 4: Resultados das atividades biológicas e triagem fitoquímica dos extratos provenientes das espécies vegetais avaliadas.

Espécie	Parte utilizada	Atividades apresentadas	encontradasa
<i>Acosmium dasycarpum</i>	Folhas	Antitumoral, leishmanicida (BH46) e antifúngica.	Terpenóides, alcalóides, flavonóides, taninos e antraquinonas.
<i>Acrocomia culeata</i>	Folhas	Antitumoral, tripanocida e leishmanicida (BH46 e M2269).	Flavonóides, taninos e cumarinas.
<i>Alternanthera Forsk</i>	Folhas	Antitumoral.	Terpenóides, flavonóides, taninos e saponinas.
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	Folhas	Antitumoral, tripanocida, leishmanicida (M2269), antibacteriana e antifúngica.	Terpenóides, flavonóides, taninos e saponinas.
<i>Campomanesia adamantium</i>	Folhas	Antitumoral, tripanocida, leishmanicida (M2269) e antifúngica.	Terpenóides, flavonóides, taninos e saponinas.
<i>Cissampelos ovalifolia</i>	Partes aéreas	Antitumoral e leishmanicida (M2269).	Terpenóides, flavonóides e taninos.
	Raiz	Antitumoral, tripanocida, leishmanicida (BH46 e M2269) e antifúngica.	Terpenóides, alcalóides, flavonóides e taninos.
<i>Eremanthus erythropappus</i>	Folhas	Antitumoral, tripanocida, leishmanicida (BH46 e M2269) e antifúngica.	Terpenóides, flavonóides, taninos e antraquinonas.
<i>Eryngium horridum</i>	Partes aéreas	Antitumoral, tripanocida, leishmanicida (BH46 e M2269) e antifúngica.	Terpenóides, taninos e saponinas.
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	Tripanocida e leishmanicida (BH46 e M2269).	Terpenóides, alcalóides, taninos, saponinas e cumarinas.

<i>Peixotoa tomentosa</i>	Folhas	Antitumoral, tripanocida, leishmanicida (M2269) e antibacteriana.	Terpenóides, flavonóides, taninos e saponinas.
<i>Senna rugosa</i>	Folhas	Antitumoral,, antifúngica.	Terpenóides, flavonóides, taninos e antraquinonas.
<i>Trimezia cathartica</i>	Planta toda	Antitumoral, tripanocida e leishmanicida (BH46 e M2269).	Flavonóides.